

# 证 明

本证明之附件是向本局提交的下列专利申请副本

申 请 日： 2002 12 31

申 请 号： 02 1 59343.4

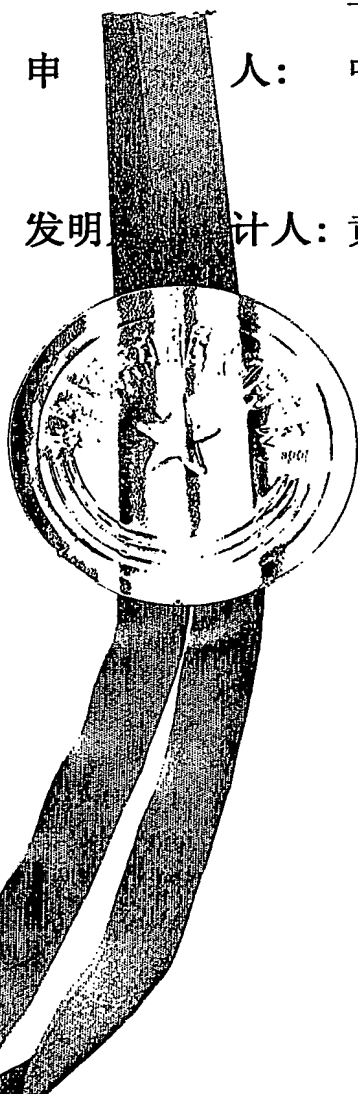
RECEIVED	
10 FEB 2004	
WIPO	PCT

申 请 类 别： 发明

发明创造名称： 新的黄皮酰胺的光学活性衍生物，其制法和其药物组合物与用途

申 人： 中国医学科学院药物研究所

发明人： 黄量；张均田；吴克美；陈世明



**PRIORITY  
DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Best Available Copy

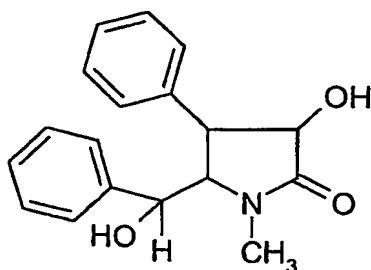
中华人民共和国  
国家知识产权局局长

王景川

2004 年 1 月 17 日

# 权 利 要 求 书

1、如通式 (I) 所示的黄皮酰胺光活立体异构体化合物



(I)

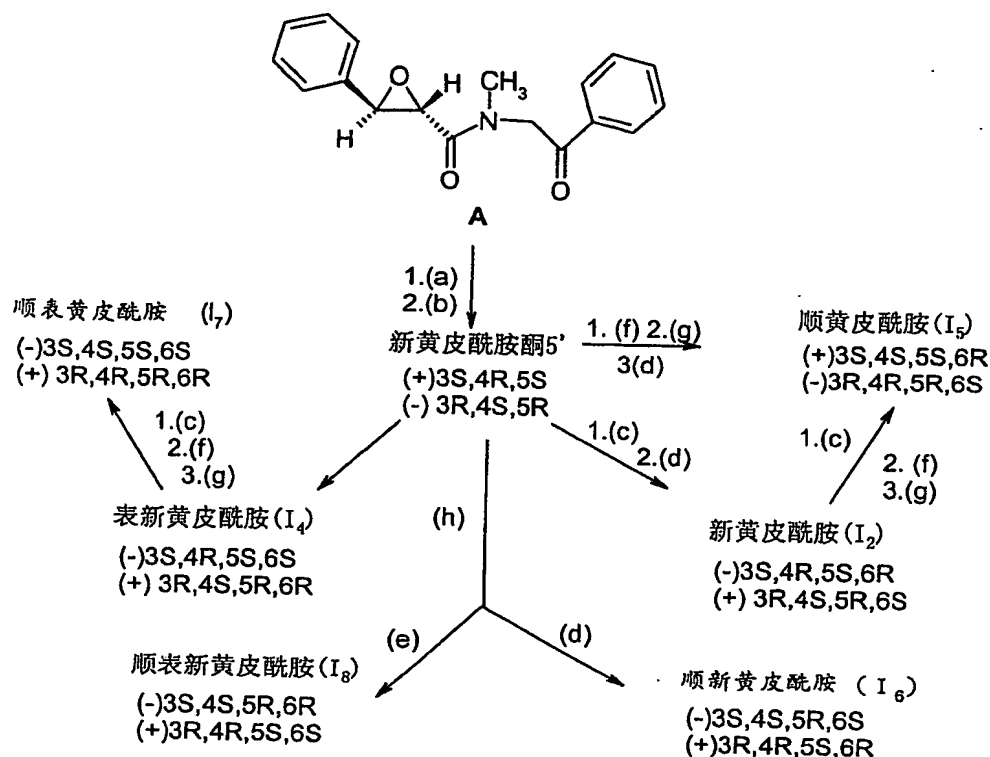
其中式 (I) 黄皮酰胺光活立体异构体由下面化合物表示：

I <sub>2</sub>	(3R, 4S, 5R, 6S)	(+) 新黄皮酰胺
	(3S, 4R, 5S, 6R)	(-) 新黄皮酰胺
I <sub>3</sub>	(3R, 4S, 5S, 6S)	(+) 表黄皮酰胺
	(3S, 4R, 5R, 6R)	(-) 表黄皮酰胺
I <sub>4</sub>	(3R, 4S, 5R, 6R)	(+) 表新黄皮酰胺
	(3S, 4R, 5S, 6S)	(-) 表新黄皮酰胺
I <sub>5</sub>	(3S, 4S, 5S, 6R)	(+) 顺黄皮酰胺
	(3R, 4R, 5R, 6S)	(-) 顺黄皮酰胺
I <sub>6</sub>	(3S, 4S, 5S, 6S)	(+) 顺表黄皮酰胺
	(3R, 4R, 5R, 6R)	(-) 顺表黄皮酰胺
I <sub>7</sub>	(3R, 4R, 5S, 6R)	(+) 顺新黄皮酰胺
	(3S, 4S, 5R, 6S)	(-) 顺新黄皮酰胺
I <sub>8</sub>	(3R, 4R, 5S, 6S)	(+) 顺表新黄皮酰胺
	(3S, 4S, 5R, 6R)	(-) 顺表新黄皮酰胺。

2、黄皮酰胺光活立体异构体 I<sub>2</sub>、I<sub>4</sub>、I<sub>5</sub>、I<sub>6</sub>、I<sub>7</sub>和 I<sub>8</sub>的制备方法，该方法由下面路线所示：



f



其中，路线中出现的字母或符号表示：

(a) 碱催化环合：式 A 化合物用选自  $\text{NaOCH}_3$ 、 $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$  或 LDA 的碱进行环合；

(b) 拆分：用选自 (-)-薄荷醇氧乙酰氯或 N 保护的氨基酸酰氯的拆分剂拆分 (a) 中环合产物；

(c) 羟基的保护：用选自二氢吡喃，乙酰氯/吡啶或乙酸酐/吡啶对反应路线中相应化合物的羟基进行保护；

(d) 还原：用选自  $\text{NaBH}_4$  或 L-selectride 的还原剂对反应路线中相应化合物的  $\text{C}_6$  酮进行还原；

(e) 还原：用选自  $\text{Al}(\text{i-C}_3\text{H}_7\text{O})_3$  对反应路线中相应化合物的  $\text{C}_6$  酮进行还原；

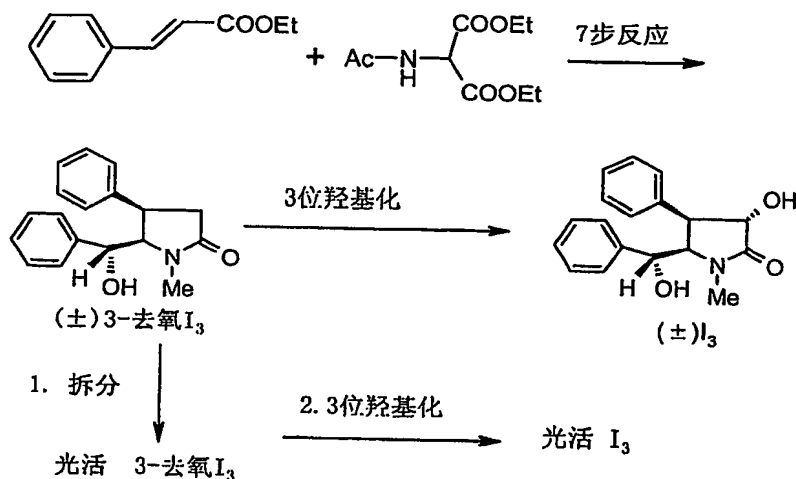
(f) 氧化：用  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7/\text{H}^+$ ，或  $\text{KMnO}_4+\text{CuSO}_4$ ， $\text{MnO}_2$  or  $\text{DMSO}/(\text{COCl})_2$  对反应路线中相应化合物的  $\text{C}_3-\text{OH}$  进行氧化；

(g) 还原：用  $\text{NaBH}_4/\text{H}^+$ 、 $\text{NaBH}_4/\text{AlCl}_3$ 、 $\text{NaBH}_4/\text{MeOH}$  对反应路线中相应化合物的  $\Delta^{3,4}$  双键进行还原或催化氢化；

(h)  $\text{C}_3-\text{OH}$  构型反转：以 DIAD 或 DEAD/TPP， $\text{H}^+$  (Mitsunobu method) 或以

6  
CsOAc/18-冠醚-6 完成对反应路线中相应化合物的 C<sub>3</sub>-OH 的构型反转；  
或者，若以光活的式 A 化合物为原料时，则可略去步骤 2(b)。

3、如权利要求 1 所述光活立体异构体化合物 I<sub>3</sub> 的制备方法，其特征在于，所述制备方法由下面反应路线所示：

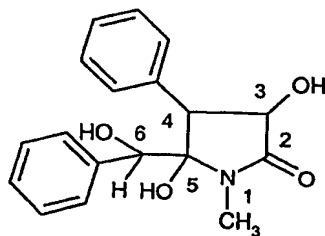


在上面路线中，经化合物 3-去氧表黄皮酰胺引入 C3 位羟基得到消旋表黄皮酰胺 (I<sub>3</sub>)，或先拆分得到 3-去氧-I<sub>3</sub> 的光活体，然后引入羟基得到光活的表黄皮酰胺 (I<sub>3</sub>)；其中

化合物 3-去氧表黄皮酰胺 (3-去氧-I<sub>3</sub>) 中引入 3 位羟基采用 LDA/O<sub>2</sub>/P(OEt)<sub>3</sub>/HMPT/THF 的条件；

化合物 3-去氧表黄皮酰胺 (3-去氧-I<sub>3</sub>) 的拆分剂选用 O-乙酰-R-扁桃酸或 O-乙酰-S-扁桃酸。

4、如通式 (II) 所示的光活黄皮酰胺 C5 羟基的衍生物



(II)

结构特征在于：消旋 II<sub>1</sub> 构型为 (3S\*, 4S\*, 5S\*, 6R\*),  
消旋 II<sub>2</sub> 构型为 (3S\*, 4S\*, 5R\*, 6S\*),

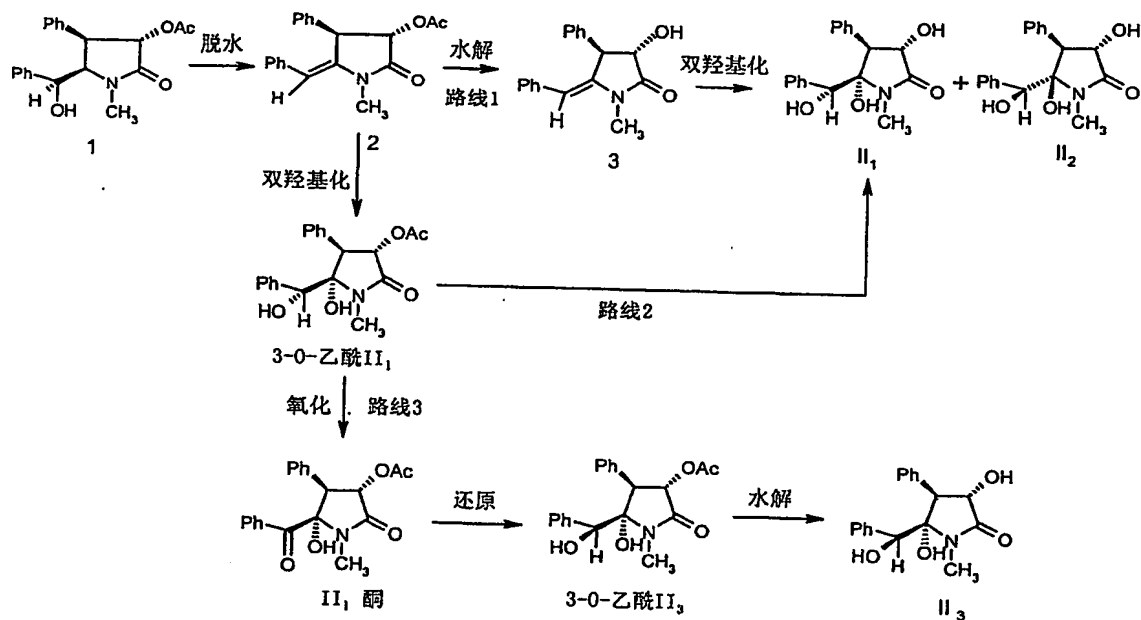
消旋 II<sub>3</sub> 构型为 (3S\*, 4S\*, 5S\*, 6S\*)。

光活 II<sub>1</sub> 构型为：(3S, 4S, 5S, 6R)  
(3R, 4R, 5R, 6S)；

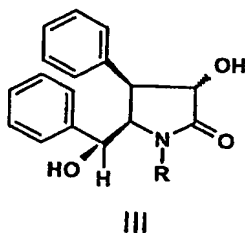
光活 II<sub>2</sub> 构型为：(3S, 4S, 5R, 6S)  
(3R, 4R, 5S, 6R)；

光活 II<sub>3</sub> 构型为：(3R, 4R, 5R, 6R)  
(3S, 4S, 5S, 6S)。

5、如权利要求 4 所述光活黄皮酰胺 C5 羟基的衍生物的制备方法，其特征在于，该制备方法由以下反应路线所示：



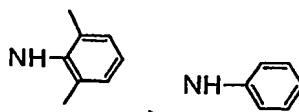
6、如通式 (III) 所示的黄皮酰胺的 N 取代衍生物



其特征在于：相对构型为 (3S\*, 4R\*, 5R\*, 6S\*)，

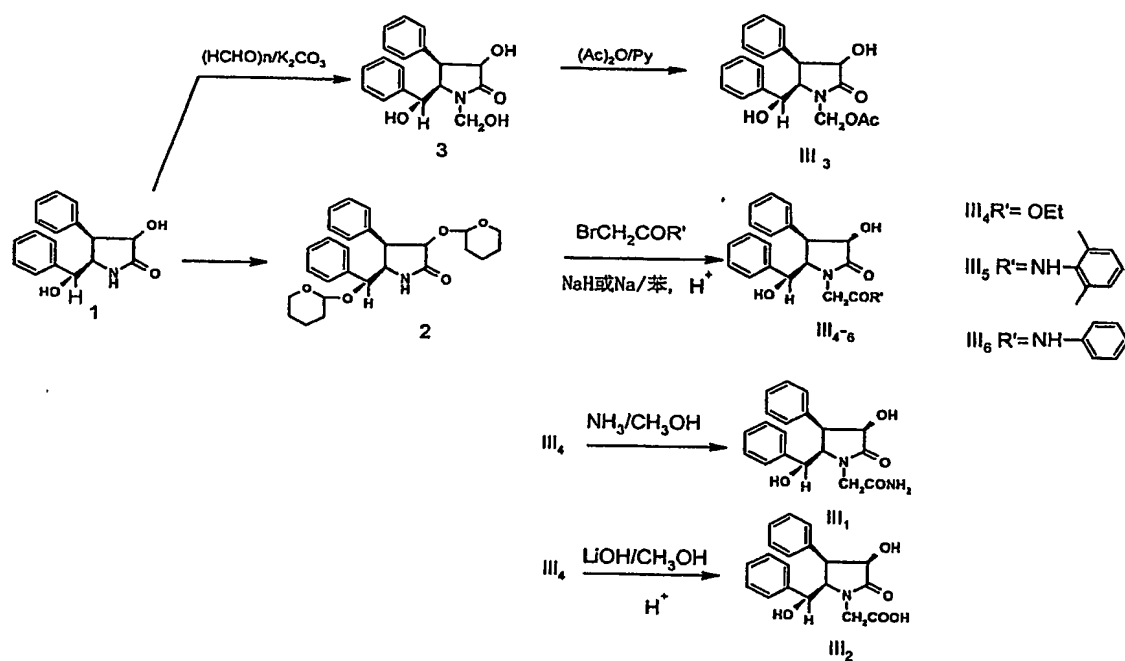
R 选自：CH<sub>2</sub>COR'、CH<sub>2</sub>OCOR'，

R' 选自 OH、NH<sub>2</sub>、C<sub>1-8</sub> 烷氧基、



R' 选自 C<sub>1-8</sub> 烷氧基。

7、如权利要求 6 所述黄皮酰胺的 N 取代衍生物的制备方法，其特征在于，所述化合物的制备方法如下面反应路线所示：



8、一种药物组合物，其特征在于，含有有效剂量的如权利要求 1 或 4 或 6 所述的任一化合物，以及药效学上可接受的载体。

9、如权利要求 1 或 4 或 6 所述的化合物在制备促智，抗衰老作用药物的应用。

# 说明书

## 新的黄皮酰胺的光学活性衍生物、 其制法和其药物组合物与用途

### 技术领域

本发明涉及羧苄基、羟基、苯基取代  $\gamma$ -内酰胺（黄皮酰胺）的立体异构体，光活的立体异构体，C5 羟基取代黄皮酰胺的立体异构体，N 取代衍生物，它们的制备方法，以它们作为活性物质的药物组合物，和它们在制备促智，抗衰老药物的应用。

### 背景技术

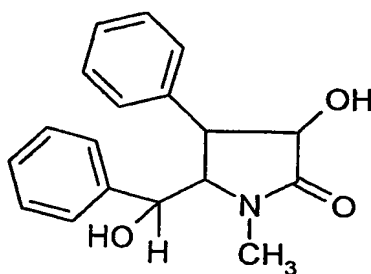
目前我国人口的平均寿命已超过 70 岁，比解放时的人均寿命增加了一倍。国外一项科学研究预测：到 2025 年时，15 岁以下儿童的比例将占总人口的 18.6%，而 65 岁及 65 岁以上的老年人将超过童数，达到 18.8%，这个数字表明，再过 20 余年，每 5 个人中就有 1 个老年人。早老性痴呆症（Alzheimer's Disease）多发生在 50 余岁。因脑血管病变引发的多发性栓塞性痴呆或老年性痴呆多发生在 60 岁以后。可见，由于人口的老龄化，早老性痴呆症和老年性痴呆症的发病率也必将增加。老年人及其特有的神经退化性疾病——各种痴呆症要经历两种死亡，首先是精神上的死亡，后是肉体上的死亡，苦不堪言，更给社会和家庭带来沉重负担。人口老龄化被认为是仅次于战争，瘟疫，饥荒，资源能源短缺而影响社会发展和安定的不利因素。

防治衰老和治疗老年痴呆的药物种类繁多。脑血管扩张药，通过改善脑血流量有助于提供能量和改善智能，但真正有价值的脑血管扩张药必须具有高度选择性，不影响脑代谢，无“窃血”现象，有抗血小板聚集和抗血栓作用。钙拮抗剂尼莫地平虽符合上述某些条件，但它仅作用于电压依赖性钙通道中的 L-通道，对 N 型和 T 型钙通道无影响。增强胆碱

系统功能的药物中，Ach 前体仅有微弱的治疗作用，Ach 受体激动剂和胆碱脂酶抑制剂虽有一定效果，但作用较短暂，毒副作用较大。多种神经肽和神经生长因子曾被认为有治疗痴呆症的希望，但临床效果不佳，可能主要归因于这类物质难以通过血脑屏障进入脑内发挥作用，2-吡咯烷酮乙酰胺 (*piracetam* 国内已生产，商品名脑复康) 问世后，在早期文献中属没有争论的一类新型促智药(*nootropil*, 该词是从希腊词 *noo*(脑) 和 *tropein* (向) 衍化而来)，近几年来国内外报道，该药对各类型的记忆障碍和老年痴呆作用轻微或尚无定论，一个主要原因是该药为水溶性化合物，通过血脑屏障率低，不易集中到靶点发挥作用。

本发明人从芸香科植物黄皮 [*Clausena Lansium* (lour.) Skells] 中第一次分离出  $\gamma$ -内酰胺骨架的化合物，称之为黄皮酰胺 (*Clausenamide*)。黄皮酰胺是具有四个手性中心的  $\gamma$ -内酰胺，天然品为消旋体，消旋黄皮酰胺的合成方法曾申请欧洲专利，其申请号为 EP0414020，中国专利申请为 86107090，90107145.5 和 90107144.7。左旋黄皮酰胺具有较好的促智作用，该化合物、制备方法及其潜在的医药应用本发明人已申请中国专利，中国专利申请号为 00124630.5。

黄皮酰胺分子由下面通式代表且其中有 4 个手性中心，故应有 16 个光活的立体异构体，并组成互为非对映关系的 8 对对映异构体 (其构型与命名如表 1)



(I)



表 1 8 对光活立体异构体

	黄皮酰胺 (I <sub>1</sub> ) (-) 3S, 4R, 5R, 6S (+) 3R, 4S, 5S, 6R	新黄皮酰胺 (I <sub>2</sub> ) (-) 3S, 4R, 5S, 6R (+) 3R, 4S, 5R, 6S
C <sub>6</sub> 异构体	表黄皮酰胺 (I <sub>3</sub> ) (+) 3S, 4R, 5R, 6R (-) 3R, 4S, 5S, 6S	表新黄皮酰胺 (I <sub>4</sub> ) (-) 3S, 4R, 5S, 6S (+) 3R, 4S, 5R, 6R
C <sub>3</sub> 异构体 (C <sub>3</sub> /C <sub>4</sub> 顺式)	顺黄皮酰胺 (I <sub>5</sub> ) (+) 3S, 4S, 5S, 6R (-) 3R, 4R, 5R, 6S	顺新黄皮酰胺 (I <sub>6</sub> ) (-) 3S, 4S, 5R, 6S (+) 3R, 4R, 5S, 6R
	顺表黄皮酰胺 (I <sub>7</sub> ) (+) 3S, 4S, 5S, 6S (-) 3R, 4R, 5R, 6R	顺表新黄皮酰胺 (I <sub>8</sub> ) (-) 3S, 4S, 5R, 6R (+) 3R, 4R, 5S, 6S

其中 I<sub>1</sub> 表示的黄皮酰胺的一对对映体 (I<sub>1</sub>) 已由本发明人申请中国专利 (专利申请号: 00124630.5)。消旋的新黄皮酰胺 (I<sub>2</sub>) 和消旋的表新黄皮酰胺 (I<sub>4</sub>) 是公知的, 但光活新黄皮酰胺 (I<sub>2</sub>) 和表新黄皮酰胺 (I<sub>4</sub>) 及其制备方法未见文献报道。(-) 和 (+) 黄皮酰胺 (I<sub>1</sub>) 的体内、外代谢的研究结果表明: 两者的代谢物的种类基本相同, 而 (-) 黄皮酰胺的代谢物中 (-)N-羟甲基去甲黄皮酰胺 [(-)-CM<sub>1</sub>] 和 (-)-5-羟基黄皮酰胺 [(-)-CM<sub>2</sub>] 的含量明显高于 (+) 黄皮酰胺的代谢产物中相应的 [(+)-CM<sub>1</sub>] 和 [(+)-CM<sub>2</sub>] 的含量。其母体 (-) 黄皮酰胺的药理试验表明, 具有明显的促智作用, 而 (+) 黄皮酰胺无此作用, 并有拮抗作用, 据此合成了代谢物 CM<sub>1</sub> 和 CM<sub>2</sub> 的一对对映体及其衍生物, 其中 CM<sub>1</sub> 的制备本发明人已发表,。

现有技术不能直接用于制备本发明所述的具有光学活性黄皮酰胺及其衍生物。

### 发明内容

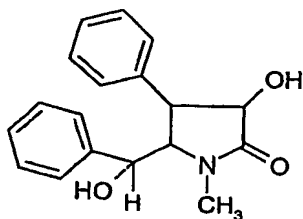
本发明的目的是提供一类新的光活的手性药物黄皮酰胺衍生物。

12

本发明的另一目的在于提供制备本发明的光学活性黄皮酰胺衍生物的方法；

本发明的另一目的在于提供至少一种新的光学活性化合物（-）黄皮酰胺在制备促智，抗衰老作用药物的应用。

具体讲，本发明涉及如通式（I）所示的黄皮酰胺光活衍生物中的另外 14 个立体异构体，组成互为非对映关系的 7 对对映异构体，（其构型与命名见表 2）

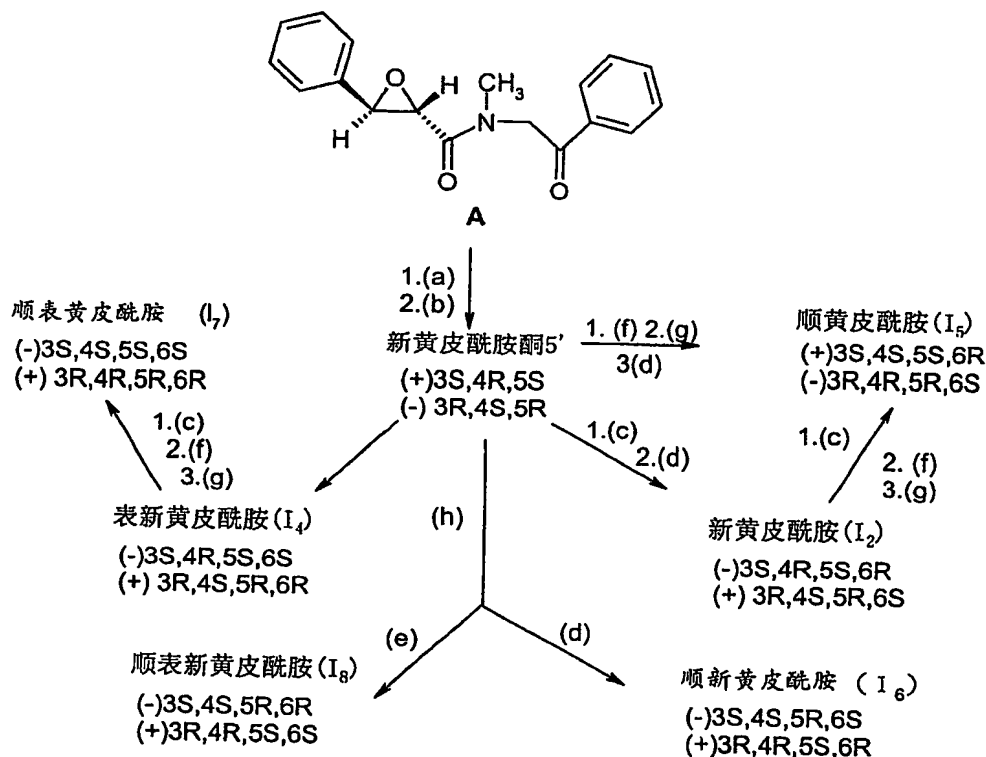


(I)

其中，式（I）黄皮酰胺光活衍生物由下面化合物表示

I <sub>2</sub>	(3R, 4S, 5R, 6S)	(+) 新黄皮酰胺
	(3S, 4R, 5S, 6R)	(-) 新黄皮酰胺
I <sub>3</sub>	(3R, 4S, 5S, 6S)	(+) 表黄皮酰胺
	(3S, 4R, 5R, 6R)	(-) 表黄皮酰胺
I <sub>4</sub>	(3R, 4S, 5R, 6R)	(+) 表新黄皮酰胺
	(3S, 4R, 5S, 6S)	(-) 表新黄皮酰胺
I <sub>5</sub>	(3S, 4S, 5S, 6R)	(+) 顺黄皮酰胺
	(3R, 4R, 5R, 6S)	(-) 顺黄皮酰胺
I <sub>6</sub>	(3R, 4R, 5S, 6R)	(+) 顺新黄皮酰胺
	(3S, 4S, 5R, 6S)	(-) 顺新黄皮酰胺
I <sub>7</sub>	(3S, 4S, 5S, 6S)	(+) 顺表黄皮酰胺
	(3R, 4R, 5R, 6R)	(-) 顺表黄皮酰胺
I <sub>8</sub>	(3R, 4R, 5S, 6S)	(+) 顺表新黄皮酰胺
	(3S, 4S, 5R, 6R)	(-) 顺表新黄皮酰胺

根据本发明，还涉及黄皮酰胺光活衍生物中  $I_2$ 、 $I_4$ 、 $I_5$ 、 $I_6$ 、 $I_7$  和  $I_8$  的制备方法，反应路线如路线 1 所示。



路线 1

其中，路线中出现的字母或符号表示：

(a) 碱催化环合：式 A 化合物用选自  $\text{NaOCH}_3$ 、 $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$  或 LDA 的碱进行环合；

(b) 拆分：用选自 (-)-薄荷醇氧乙酰氯或 N 保护的氨基酸酰氯的拆分剂拆分 (a) 中环合产物；

(c) 羟基的保护：用选自二氢吡喃，乙酰氯/吡啶或乙酸酐/吡啶对反应路线中相应化合物的羟基进行保护；

(d) 还原：用选自  $\text{NaBH}_4$  或 L-selectride 的还原剂对反应路线中相应化合物的  $\text{C}_6$  酮进行还原；

(e) 还原：用选自  $\text{Al}(\text{i-C}_3\text{H}_7\text{O})_3$  对反应路线中相应化合物的  $\text{C}_6$  酮进行还原；

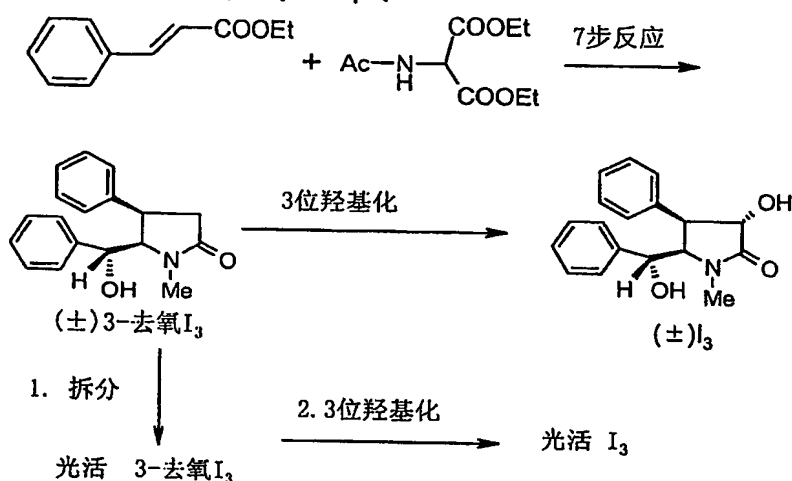
(f) 氧化：用  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7/\text{H}^+$ ，或  $\text{KMnO}_4+\text{CuSO}_4$ ， $\text{MnO}_2$  or  $\text{DMSO}/(\text{COCl})_2$  对反应路线中相应化合物的  $\text{C}_3-\text{OH}$  进行氧化；

(g) 还原：用  $\text{NaBH}_4/\text{H}^+$ 、 $\text{NaBH}_4/\text{AlCl}_3$ 、 $\text{NaBH}_4/\text{MeOH}$  对反应路线中相应化合物的  $\Delta^{3,4}$  双键进行还原或催化氢化；

(h) C<sub>3</sub>-OH 构型反转：以 DIAD 或 DEAD/TPP, H<sup>+</sup> (Mitsunobu method) 或以 CsOAc/18-冠醚-6 完成对反应路线中相应化合物的 C<sub>3</sub>-OH 的构型反转。

本路线均以已知的消旋或光活的 N-甲基-N-苯甲酰基-3-苯基缩水甘油酰胺(A)为原料。若以光活的化合物 A 为原料, 则可略去步骤 2(b) 拆分这一步。

本发明化合物中黄皮酰胺的光活立体异构体中 I<sub>3</sub> (C6 差向异构体表黄皮酰胺) 的制备方法如路线 2 所示。



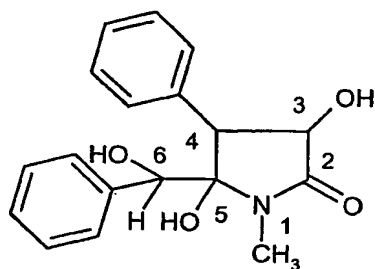
路线 2

本路线原料的原料消旋 3-去氧表黄皮酰胺 (3-去氧-I<sub>3</sub>) 为已知化合物, 是拜尔药厂合成消旋黄皮酰胺的中间体 [Walfgang Hartwig, Liborrious Born, *J. Org. Chem.*, 1987, 52, 4352.] 的副产物。本路线经化合物 3-去氧-I<sub>3</sub> 引入 C3 位羟基得到消旋表黄皮酰胺 (I<sub>3</sub>)。或先拆分得到 3-去氧-I<sub>3</sub> 的光活体, 然后引入羟基得到光活的表黄皮酰胺 (I<sub>3</sub>)。

在反应路线 2 中, 在 3-去氧表黄皮酰胺 (3-去氧-I<sub>3</sub>) 中引入 3 位羟基, 条件是采用选自二异丙基胺基锂 (LDA) /O<sub>2</sub>/P(OEt)<sub>3</sub>/六甲基磷酰胺 (HMPT) /THF 的试剂。

进一步讲, 在 3-去氧表黄皮酰胺 (3-去氧-I<sub>3</sub>) 的拆分中, 拆分剂选自 O-乙酰-R-扁桃酸、O-乙酰-S-扁桃酸、薄荷醇氧乙酸、N-保护的氨基酸。

根据本发明，还涉及如通式(II)所示的光活黄皮酰胺 C5 羟基的衍生物



(II)

结构特征在于：消旋 II<sub>1</sub> 构型为 (3S\*, 4S\*, 5S\*, 6R\*),

消旋 II<sub>2</sub> 构型为 (3S\*, 4S\*, 5R\*, 6S\*),

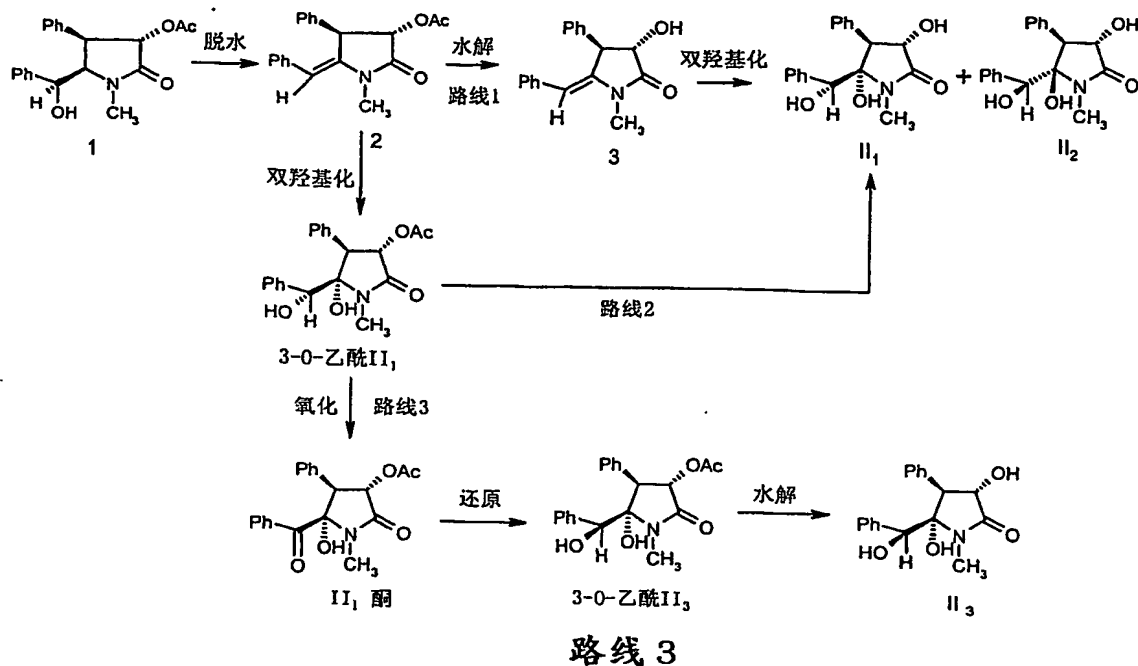
消旋 II<sub>3</sub> 构型为 (3S\*, 4S\*, 5S\*, 6S\*)。

光活 II<sub>1</sub> 构型为：(3S, 4S, 5S, 6R) 或 (3R, 4R, 5R, 6S) (I<sub>4</sub>)；

光活 II<sub>2</sub> 构型为：(3S, 4S, 5R, 6S) 或 (3R, 4R, 5S, 6R) (I<sub>7</sub>)；

光活 II<sub>3</sub> 构型为：(3R, 4R, 5R, 6R) 或 (3S, 4S, 5S, 6S) (I<sub>6</sub>)。

根据本发明，还涉及通式(II)所示的光活黄皮酰胺 C5 羟基的衍生物的制备方法如路线 3 所示。



在反应路线 3 中，首先将消旋 3-O-乙酰黄皮酰胺 (1) 及其光活体的脱水形成化合物 (2)，脱水剂可用  $\text{POCl}_3/\text{Py}$ ，或先制备黄皮酰胺的甲磺酸酯再以 DBU 脱除甲磺酸，其中优选  $\text{POCl}_3/\text{Py}$ ；

消旋 3-O-乙酰- $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺 (2) 及其光活体然后水解形成化合物 (3)，水解可选用常规的酸或碱性条件；

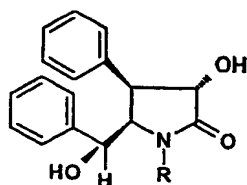
消旋  $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺 (3) 及其光活体进行双羟基化形成 3-O-乙酰  $\text{II}_1$ ，该双羟基化可用  $\text{OsO}_4/\text{NMO}$ 、 $\text{KHSO}_5/\text{CH}_3\text{COCF}_3$ 、 $\text{WO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$  等试剂，其中优选  $\text{OsO}_4/\text{NMO}$ ；

所得 (3S\*, 4S\*, 5S\*, 6R\*)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺 (3-O-乙酰  $\text{II}_1$ ) 及其光活体进行氧化形成  $\text{II}_1$  酮，其中氧化剂可用  $\text{KMnO}_4/\text{CuSO}_4$ ， $\text{MnO}_2$ ， $\text{DMSO}/\text{ClCOCOC1}/\text{TEA}$ ， $\text{DMSO}/$ 三氟乙酸酐 (TFAA) /TEA 等氧化剂，优选  $\text{DMSO}/\text{ClCOCOC1}/\text{TEA}$ ；

所得 (3S\*, 4S\*, 5S\*)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺酮 ( $\text{II}_1$  酮) 及其光活体进一步还原生成 3-O-乙酰  $\text{II}_3$ ，还原剂可选用各种硼氢化试剂，优选硼氢化钠、三仲丁基硼锂；

所得 (3S\*, 4S\*, 5S\*, 6S\*)-3-乙酰氧基-5-羟基黄皮酰胺 ( $\text{II}_3$ ) 及其光活体进一步水解生成  $\text{II}_3$ ，水解选用各种酸、碱或  $\text{Sm}$  (钐) / $\text{I}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ ，优选  $\text{Sm}/\text{I}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 。

根据本发明，还涉及如通式 (III) 所示的黄皮酰胺的 N 取代衍生物



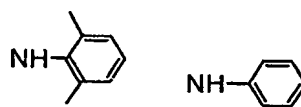
(III)

其特征在于相对构型为 (3S\*, 4R\*, 5R\*, 6S\*),

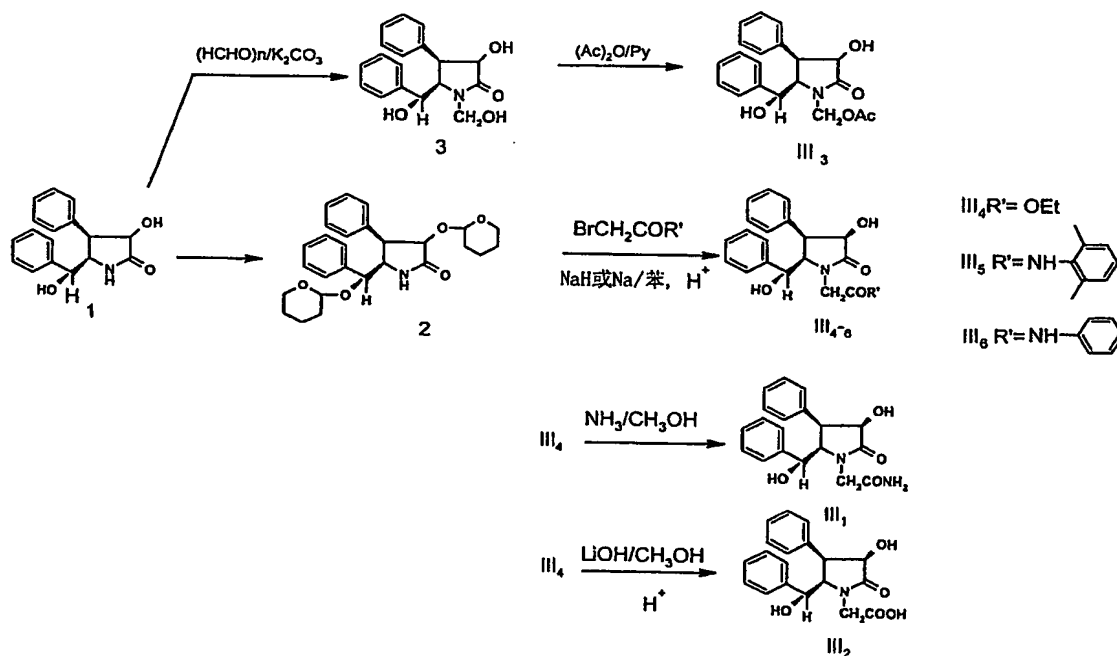
取代基 R 选自:  $\text{CH}_2\text{COR}'$ 、 $\text{CH}_2\text{OCOR}'$ ,

R' 选自 OH、 $\text{NH}_2$ 、 $\text{C}_{1-8}$  烷氧基、

R'' 选自  $\text{C}_{1-8}$  烷氧基



通式 (III) 所示的黄皮酰胺的 N 取代衍生物的制备方法如路线 4 所示



路线 4

在路线 4 中，由去甲黄皮酰胺(1)和二氢吡喃在吡啶对甲苯磺酸盐催化下制备 3,6-二-O-四氢吡喃去甲黄皮酰胺(2)。将 3,6-二-O-四氢吡喃去甲黄皮酰胺(2)溶于无水苯中，加入氢钠，油浴加热半小时，再在室温

18  
下搅 10 分钟，加入溴乙酸酯的无水苯溶液，油浴 60℃ 下反应 20 分钟后，将反应液温度降至室温，加入水搅拌，用二氯甲烷稀释，盐酸调至中性，分出有机层，洗涤干燥，蒸发溶剂得到油状物。将此油状物用乙醇溶解，加入 10mg 对甲苯磺酸，油浴 60℃ 下反应脱四氢吡喃保护，反应完全后直接柱层析纯化，得到 N-(烷氧(氮)羰基亚甲基)去甲黄皮酰胺(III<sub>4</sub>)。

将 N-(乙氧羰基亚甲基)去甲黄皮酰胺(III<sub>4</sub>) 60mg，以大大过量的 NH<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH 溶液处理，放置过夜，柱层析纯化后得到 N-(氮羰基亚甲基)去甲黄皮酰胺(III<sub>1</sub>)。

将去甲黄皮酰胺(1)溶于丙酮中，滴加一定量的水，然后加入多聚甲醛和碳酸钾，外温升至 60℃，25 分钟后停止加热，将反应混合物用冰水快速冷却，减压蒸发溶剂得粘稠的液体。柱层析得 N-羟甲基去甲黄皮酰胺(3)。将 N-羟甲基去甲黄皮酰胺(3)溶于无水四氢呋喃中，冰盐浴下搅拌 20 分钟，滴加相应的酸酐和吡啶的无水 THF 溶液，在此温度下搅拌 3 小时，加入少量水，二氯甲烷稀释，分出有机层，洗涤，蒸除溶剂后柱层析分离得到相应的 N-(酰氧基亚甲基)-去甲黄皮酰胺(III<sub>3</sub>)。

本发明因此还涉及含有作为活性成份的本发明化合物和常规药物赋形剂或辅剂的药物组合物。通常本发明药物组合物含有 0.1-95 重量%的本发明化合物。

本发明化合物的药物组合物可根据本领域公知的方法制备。用于此目的时，如果需要，可将本发明化合物与一种或多种固体或液体药物赋形剂和/或辅剂结合，制成可作为人药或兽药使用的适当的施用形式或剂量形式。

本发明化合物或含有它的药物组合物可以单位剂量形式给药，给药途径可为肠道或非肠道，如口服、肌肉、皮下、鼻腔、口腔粘膜、皮肤、腹膜或直肠等，优选口服。

本发明化合物或含有它的药物组合物的给药途径可为注射给药。注射包括静脉注射、肌肉注射、皮下注射和皮内注射等。

给药剂型可以是液体剂型、固体剂型。如液体剂型可以是真溶液类、



胶体类、微粒剂型、乳剂剂型、混悬剂型。其他剂型例如片剂、胶囊、滴丸、气雾剂、丸剂、粉剂、溶液剂、混悬剂、乳剂、颗粒剂、栓剂、冻干粉针剂等。

本发明化合物可以制成普通制剂、也可以是缓释制剂、控释制剂、靶向制剂及各种微粒给药系统。

为了将单位给药剂型制成片剂，可以广泛使用本领域公知的各种载体。关于载体的例子是，例如稀释剂与吸收剂，如淀粉、糊精、硫酸钙、乳糖、甘露醇、蔗糖、氯化钠、葡萄糖、尿素、碳酸钙、白陶土、微晶纤维素、硅酸铝等；湿润剂与粘合剂，如水、甘油、聚乙二醇、乙醇、丙醇、淀粉浆、糊精、糖浆、蜂蜜、葡萄糖溶液、阿拉伯胶浆、明胶浆、羧甲基纤维素钠、紫胶、甲基纤维素、磷酸钾、聚乙烯吡咯烷酮等；崩解剂，例如干燥淀粉、海藻酸盐、琼脂粉、褐藻淀粉、碳酸氢钠与枸橼酸、碳酸钙、聚氧乙烯山梨糖醇脂肪酸酯、十二烷基磺酸钠、甲基纤维素、乙基纤维素等；崩解抑制剂，例如蔗糖、三硬脂酸甘油酯、可可脂、氢化油等；吸收促进剂，例如季铵盐、十二烷基硫酸钠等；润滑剂，例如滑石粉、二氧化硅、玉米淀粉、硬脂酸盐、硼酸、液体石蜡、聚乙二醇等。还可以将片剂进一步制成包衣片，例如糖包衣片、薄膜包衣片、肠溶包衣片，或双层片和多层片。

例如为了将给药单元制成丸剂，可以广泛使用本领域公知的各种载体。关于载体的例子是，例如稀释剂与吸收剂，如葡萄糖、乳糖、淀粉、可可脂、氢化植物油、聚乙烯吡咯烷酮、Gelucire、高岭土、滑石粉等；粘合剂，如阿拉伯胶、黄蓍胶、明胶、乙醇、蜂蜜、液糖、米糊或面糊等；崩解剂，如琼脂粉、干燥淀粉、海藻酸盐、十二烷基磺酸钠、甲基纤维素、乙基纤维素等。

例如为了将给药单元制成胶囊，将有效成分本发明化合物与上述的各种载体混合，并将由此得到的混合物置于硬的明胶胶囊或软胶囊中。也可将有效成分本发明化合物制成微囊剂，混悬于水性介质中形成混悬剂，亦可装入硬胶囊中或制成注射剂应用。

例如，将本发明化合物制成注射用制剂，如溶液剂、混悬剂溶液剂、

乳剂、冻干粉针剂，这种制剂可以是含水或非水的，可含一种和/或多种药效学上可接受的载体、稀释剂、粘合剂、润滑剂、防腐剂、表面活性剂或分散剂。如稀释剂可选自水、乙醇、聚乙二醇、1,3-丙二醇、乙氧基化的异硬脂醇、多氧化的异硬脂醇、聚氧乙烯山梨醇脂肪酸酯等。另外，为了制备等渗注射液，可以向注射用制剂中添加适量的氯化钠、葡萄糖或甘油，此外，还可以添加常规的助溶剂、缓冲剂、pH调节剂等。这些辅料是本领域常用的

此外，如需要，也可以向药物制剂中添加着色剂、防腐剂、香料、矫味剂、甜味剂或其它材料。

为达到用药目的，增强治疗效果，本发明的药物或药物组合物可用任何公知的给药方法给药。

本发明化合物药物组合物的给药剂量取决于许多因素，例如所要预防或治疗疾病的性质和严重程度，患者或动物的性别、年龄、体重、性格及个体反应，给药途径、给药次数、治疗目的，因此本发明的治疗剂量可以有大范围的变化。一般来讲，本发明中药学成分的使用剂量是本领域技术人员公知的。可以根据本发明化合物组合物中最后的制剂中所含有的实际药物数量，加以适当的调整，以达到其治疗有效量的要求，完成本发明的预防或治疗目的。本发明化合物的每天的合适剂量范围本发明的化合物的用量为0.001—150mg/Kg体重，优选为0.01—100mg/Kg体重，更优选为0.01—60mg/Kg体重，最优选为0.1—10mg/Kg体重。上述剂量可以单一剂量形式或分成几个，例如二、三或四个剂量形式给药这受限于给药医生的临床经验以及包括运用其它治疗手段的给药方案。

每一种治疗所需总剂量可分成多次或按一次剂量给药。本发明的化合物或组合物可单独服用，或与其他治疗药物或对症药物合并使用并调整剂量。

在对人胚胎脑神经干细胞克隆形成率的试验中本发明的化合物具有明显促进人胚胎脑神经干细胞克隆形成的作用，说明本发明的化合物具有治疗老年性神经退行性疾病如老年性痴呆的作用。

在对神经细胞胞浆游离钙的影响的试验中本发明的化合物有升高神经细胞胞浆游离钙水平的趋势。钙作为第二信使在细胞活动中起着重要作用，胞浆游离钙浓度的变化与许多生理/病理刺激和细胞内效应器的反应具有密切关系。

在对大鼠海马长时程增强(LTP)的试验中本发明化合物对大鼠海马长时程增强(LTP)具有明显的增强作用，( $P < 0.05$  vs control,  $n=5$ )。本发明化合物对神经细胞基础突触传递有增强作用，说明本发明的化合物有促智作用。

## 附图说明

图 1 16 种光学活性黄皮酰胺对人胚胎神经干细胞的影响

## 具体实施方式

### 实施例 1 光活新黄皮酰胺( $I_2$ )的制备(见路线 1)

消旋新黄皮酰胺酮 2.7g，加至由 2.7g (-)-薄荷醇氧乙酸制备的(-)-薄荷醇氧乙酰氯的 30mL 的二氯甲烷溶液，以冰水浴冷却，然后加入 1.5mL 吡啶，室温搅拌至反应完全，反应液以 50mL 的二氯甲烷稀释，依次以 2N 盐酸，饱和碳酸钠溶液和食盐水洗，有机层用无水硫酸钠干燥。浓缩后得 6g 油状物，加入己烷固化，固体过滤，以甲醇重结晶得 1.48g 3-O-[-(-)-薄荷醇氧乙酰基] -- (3R, 4S, 5R)-新黄皮酰胺酮[酯(a)]，mp: 170-172°C,  $[\alpha]_D^{15} = -50.9$  (c, 1.25, CHCl<sub>3</sub>)，收率 50%，滤液柱层析得到 3-O-[-(-)-薄荷醇氧乙酰基] -- (3S, 4R, 5S)-新黄皮酰胺酮[酯(b)]，mp: 104-105°C,  $[\alpha]_D^{15} = -31.2$  (c, 1.40, CHCl<sub>3</sub>)。酯(a)和酯(b)分别以对甲苯磺酸的甲醇溶液水解，蒸去甲醇，残余物溶于二氯甲烷，溶液依次以碱和酸的水溶液洗，从 6 g 酯(a)得到 3.25g 的(-)-(3R, 4S, 5R)-新黄皮酰胺酮，收率 86%，mp: 164-167°C,  $[\alpha]_D^{15} = -14.9$  (c, 0.60, CHCl<sub>3</sub>)；由 5.5g 酯(b)得到 3.0g 的(+)-(3S, 4R, 5S)-新黄皮酰胺酮，收率 89%，mp: 167-169°C,  $[\alpha]_D^{15} = +14.1$  (c, 0.54, CHCl<sub>3</sub>)。

光活新黄皮酰胺 (I<sub>2</sub>) 由光活新黄皮酰胺酮的 3-O-四氢吡喃醚还原得到。

(+)-3-O-四氢吡喃基新黄皮酰胺酮 0.45g (1.19mmol) 的 10ml 无水四氢吡喃液注入到 -25—-30℃ 的 2.5 ml 1.0M LTBB/THF 中, 反应 1 小时后, 用 40ml 冰水 (含 2ml, 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 分解, 用二氯甲烷提取, 合併同相, 依次用 2N NaOH、饱和 NaHCO<sub>3</sub> 及 NaCl 水溶液洗涤 (PH ≈ 8), 无水硫酸钠干燥, 浓缩得油状物, 用 3ml 无水乙醇及 25mg TSOH H<sub>2</sub>O, 60℃ 反应 30 分钟, 稍冷后加乙醚 5ml, 续冷析出 (-)-(3S, 4R, 5S, 6R)-新黄皮酰胺 (I<sub>2</sub>), mp: 186-187℃,  $[\alpha]_D = -88.6$  (c, 0.18, MeOH), 收率 77.9%。

(-)-3-O-四氢吡喃基新黄皮酰胺酮 0.379g (1.0mmol), 同上法还原去保护得 (+)-(3R, 4S, 5R, 6S)-新黄皮酰胺 (I<sub>2</sub>), mp: 186-187℃,  $[\alpha]_D = +89.5$  (c, 0.20, MeOH), 收率 77.4%。

#### 实施例 2 光活表新黄皮酰胺 (I<sub>4</sub>) 的制备

(+)-(3S, 4R, 5S)-新黄皮酰胺酮 1.05g (3.56mmol), 异丙醇铝 2.4 (11.75mmol) 溶于 30ml 无水异丙醇中, 加热搅拌, 慢慢蒸出异丙醇及丙酮, 并同时等速滴加无水异丙醇, 约 6.5 小时反应完成, 蒸除大部分溶剂, 冷至室温加 60ml 水及 20ml 3N 盐酸室温搅拌, 析出大量白色固体, 用甲醇重结晶, 得 (-)-(3S, 4R, 5S, 6S)-表新黄皮酰胺, 收率 85%, m. p. 217-219℃,  $[\alpha]_{D24} = -36.5$  (c, 0.128, MeOH)。用甲醇再次重结晶, m. p. 221-222℃,  $[\alpha]_{D20} = -37.3$  (c, 0.15, MeOH)。

(-)-(3R, 4S, 5R)-新黄皮酰胺酮为原料, 同上操作, 以异丙醇铝还原, 得 (+)-(3R, 4R, 5S, 6R)-表新黄皮酰胺, m. p. 220-222℃,  $[\alpha]_{D20} = +36.5$  (c, 0.16, MeOH)。

#### 实施例 3 表黄皮酰胺 (I<sub>3</sub>) 的制备 (见路线 2)

##### A: (±)-表黄皮酰胺 (I<sub>3</sub>) 的制备

将 (±)-(4R\*, 5R\*, 6R\*)-3-去氧表黄皮酰胺 (3-去氧 I<sub>3</sub>) 120mg, 用 5mL 无水 THF 和 1.3mL 六甲基磷酰胺溶解 (N<sub>2</sub> 保护下), 冷至 -70℃, 搅拌 5

分钟，用注射器加入 1.40mL 新制的二异丙基氨基锂， $-60^{\circ}\text{C}$  至  $-70^{\circ}\text{C}$  下搅拌 1 小时，加入亚磷酸三乙酯 53  $\mu\text{l}$ ，通入依次经过氢氧化钾、浓硫酸、无水氯化钙处理过的  $\text{O}_2$ ，保持温度在  $-60^{\circ}\text{C}$  至  $-70^{\circ}\text{C}$ ，2 小时后停止通气，反应液用 0.5 mol/L 盐酸在冰水浴下调至 PH 值= 3-4，再依次用乙酸乙酯洗、水洗、氯化钠水溶液洗，无水硫酸钠干燥，蒸发溶剂后柱层析得到标题化合物 32mg，重结晶 mp:  $193-195^{\circ}\text{C}$ 。

B: (-)-(3S, 4R, 5R, 6R)-表黄皮酰胺 ( $\text{I}_3$ ) 和 (+)-(3R, 4S, 5S, 6S)-表黄皮酰胺 ( $\text{I}_3$ ) 的制备

将 ( $\pm$ )-3-去氧表黄皮酰胺 (3-去氧  $\text{I}_3$ ) 600mg 溶于 30mL 无水二氯甲烷中，再将 O-乙酰-(-)-R-扁桃酸 621mg，4-(二甲基氨基)吡啶 26mg 及 1,3-二环己基碳酰亚胺 880mg 依次加入，室温下搅拌 1 小时，滤去不溶物，20mL 二氯甲烷洗涤滤饼，有机相用 2mol/L 盐酸洗至偏酸，再用饱和碳酸氢钠水溶液、饱和氯化钠水溶液洗，无水硫酸钠干燥过夜，蒸去溶剂得油状物 930mg。柱层析纯化得 (4R, 5R, 6R)-5-O-乙酰-R-扁桃酰基-3-去氧表黄皮酰胺 452 mg，收率 46%，mp:  $212-215^{\circ}\text{C}$ ；和 (4S, 5S, 6S)-5-(O-乙酰-R-扁桃酰)-O-3-去氧表黄皮酰胺 370mg，mp  $206-209^{\circ}\text{C}$ ，收率 40%。

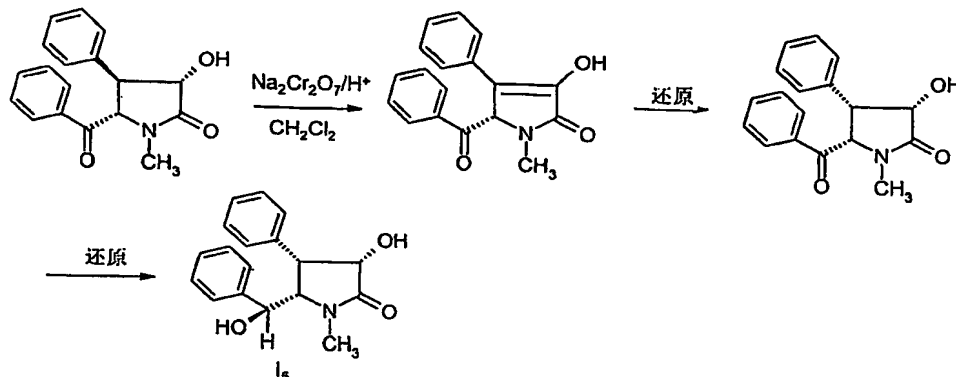
将 (4S, 5S, 6S)-5-(O-乙酰-R-扁桃酰基)-O-3-去氧表黄皮酰胺 234mg 溶于 20mL 甲醇和 10mL 二氯甲烷中，加入碳酸钾 141mg，室温搅拌 12 小时。用 2mol/L 盐酸中和后减压蒸去溶剂，再用二氯甲烷溶解，水洗后用饱和氯化钠水溶液洗一次，无水硫酸钠干燥，蒸发溶剂得 150mg 固体。柱层析纯化得 (+)-(4S, 5S, 6S)-3-去氧表黄皮酰胺 (3-去氧  $\text{I}_3$ ) 134mg，白色固体，收率 93%。mp:  $239-242^{\circ}\text{C}$   $[\alpha]_D^{30} = +137$  (c, 0.465, 甲醇)

按上步反应同样的方法，将 (4R, 5R, 6R)-5-O-乙酰-R-扁桃酰基-3-去氧表黄皮酰胺以  $\text{K}_2\text{CO}_3/\text{CH}_3\text{OH}$  处理得到 (-)-(4R, 5R, 6R)-3-去氧表黄皮酰胺 (3-去氧  $\text{I}_3$ )，白色固体，收率与上相近，mp:  $237-240^{\circ}\text{C}$ ， $[\alpha]_D^{30} = -136$  (c, 0.480，甲醇)。

以 (-)-(4R, 5R, 6R)-3-去氧表黄皮酰胺 (3-去氧  $\text{I}_3$ ) 或 (+)-(4S, 5S, 6S)-3-去氧表黄皮酰胺 (3-去氧  $\text{I}_3$ ) 为原料，应用消旋 3-去

氧表黄皮酰胺(3-去氧 I<sub>3</sub>)引入 3 位羟基的方法, 可分别得到  
 (-)-(3S, 4R, 5R, 6R)-表黄皮酰胺(I<sub>3</sub>), mp: 107-109℃,  $[\alpha]_D^{29} = -204$   
 (c, 0.445, 甲醇)或 (+)-(3R, 4S, 5S, 6S)-表黄皮酰胺(I<sub>3</sub>), mp: 108-110  
 °C  $[\alpha]_D^{29} = +201$  (c, 0.245, 甲醇)。

#### 实施例 4 顺黄皮酰胺(I<sub>5</sub>)的制备



#### 路线 5 顺黄皮酰胺(I<sub>5</sub>)的制备

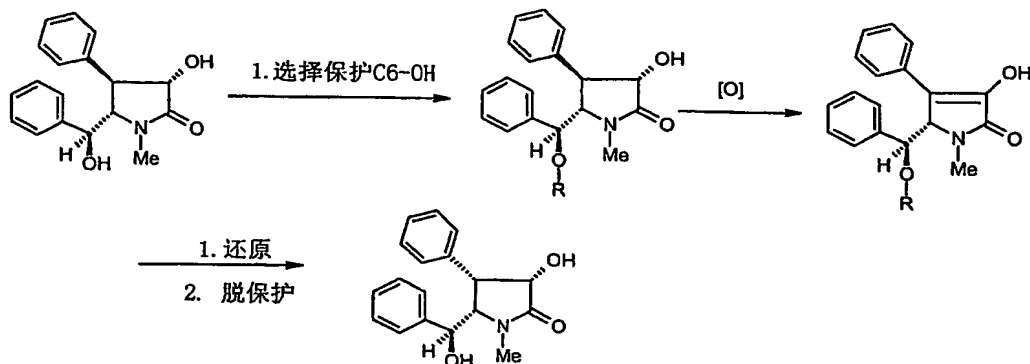
酸性重铬酸钠溶液 (0.7g 重铬酸钠, 0.7g 浓硫酸和 5mL 水配成) 加至 0.25g 的新黄皮酰胺酮的 10mL 二氧甲烷溶液, 在室温搅拌 5 小时, 加入二氧甲烷提取, 提取液依次以碳酸氢钠溶液和水洗, 蒸去溶剂, 残留物甲醇重结晶得 0.19g, 收率 78%, mp: 157-159°C,  $[\alpha]_D^{15} = -199.6$  (c, 0.75, CHCl<sub>3</sub>) 的 (-)-(5S)  $\Delta^{3,4}$ -新黄皮酰胺酮

(-)-(5S)- $\Delta^{3,4}$ -新黄皮酰胺酮 0.1 克溶于含有 1mL 醋酸, 0.01mol 硼氢化钠的 10mL 二氯甲烷, 搅拌, 以薄层跟踪反应完毕后, 滴入醋酸以分解剩余的硼氢化钠, 然后加入 20mL 二氯甲烷, 反应液倾至 50mL 冰水中, 分离出有机层, 依次以饱和碳酸氢钠水溶液和水洗, 蒸去二氯甲烷, 残留物柱层析得 0.074g 的 (-)-(3S, 4S, 5S)-顺黄皮酰胺酮, 收率 73%, mp: 145-147°C,  $[\alpha]_D^{20} = -111.0$  (C, 0.48, CHCl<sub>3</sub>)。

(-)-(3S, 4S, 5S)-顺黄皮酰胺酮 0.089g 溶于 10mL 二氯甲烷, 以 0.01g 硼氢化钠/甲醇还原, 在反应完毕后加入 30mL 二氯甲烷, 然后以乙酸处理剩余硼氢化钠, 用碳酸氢钠和水洗, 蒸去溶剂得油状物, 以丙酮和石油醚重结晶, 得 (+)-(3S, 4S, 5S, 6R)-顺黄皮酰胺(I<sub>5</sub>) 的晶体 0.59g, 收率 77%, mp: 197-199.5°C,  $[\alpha]_D^{22} = +6.30$  (c, 0.46, CHCl<sub>3</sub>)。

以(-)-(3R,4S,5R)-新黄皮酰胺酮为原料,按上述方法反应得(+)-(5R)- $\Delta^{3,4}$ -新黄皮酰胺酮,收率75%,m.p.154-156°C,  $[\alpha]_D^{15}=+206.8$ (c,0.90,CHCl<sub>3</sub>);(+)-(3R,4R,5R)-顺黄皮酰胺酮,收率76%,m.p.130-132°C,  $[\alpha]_D^{20}=+116.5$ (c,0.40,CHCl<sub>3</sub>);(-)-(3R,4R,5R,6S)-顺黄皮酰胺(I<sub>5</sub>),产率69%,m.p.196-198°C,  $[\alpha]_D^{22}=-6.07$ (c,0.67,CHCl<sub>3</sub>)。

#### 实施例5 顺表黄皮酰胺(I<sub>7</sub>)的制备



R= -CO-R' (R'=C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), 四氢吡喃, MEM[(2-甲氧基-乙氧基)-亚甲基], MOM(甲氧基亚甲基)

#### 路线6 顺表黄皮酰胺(I<sub>7</sub>)的制备

将0.2克6-O-乙酰表新黄皮酰胺溶于20ml H<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>溶剂中,分批滴加重铬酸钠的酸性水溶液(Na<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>=20mol/7mol)5ml,室温搅拌至原料点消失,加入20mlCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>稀释,分去水层,用水和饱和碳酸氢钠水溶液分别洗涤有机层,无水硫酸钠干燥,蒸去溶剂后得浅棕色固体,柱层折分离(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 50/1)得产物0.163g, mp: 166.5-168°C, 产率65%。

本方法亦适用于相应光活体的合成。

由(+)-(3R,4S,5R,6R)-6-O-乙酰表新黄皮酰胺得(5R,6R)-6-O-乙酰- $\Delta^{3,4}$ -表黄皮酰胺,  $[\alpha]_D^{22}=+80.4^{\circ}$ (c,0.47,CHCl<sub>3</sub>), mp: 170-172°C, 由(-)-(3S,4R,5S,6S)表新黄皮酰胺得(5S,6S)-6-O-乙酰- $\Delta^{3,4}$ -表黄皮酰胺,  $[\alpha]_D^{22}=-83.4^{\circ}$ (c,0.37,CHCl<sub>3</sub>), mp: 168-170°C

将0.1g 6-O-乙酰- $\Delta^{3,4}$ -表黄皮酰胺溶于20mL 二氯甲烷中,室温下滴加冰醋酸0.5mL,分批加入0.2g 硼氢化钠,搅拌至原料点消失,再加入20mL 二氯甲烷稀释,倾入50mL 冰水中,搅拌数分钟后分去水层,有机层用饱和碳酸氢钠水溶液洗涤2次,无水硫酸钠干燥,蒸干溶剂得到

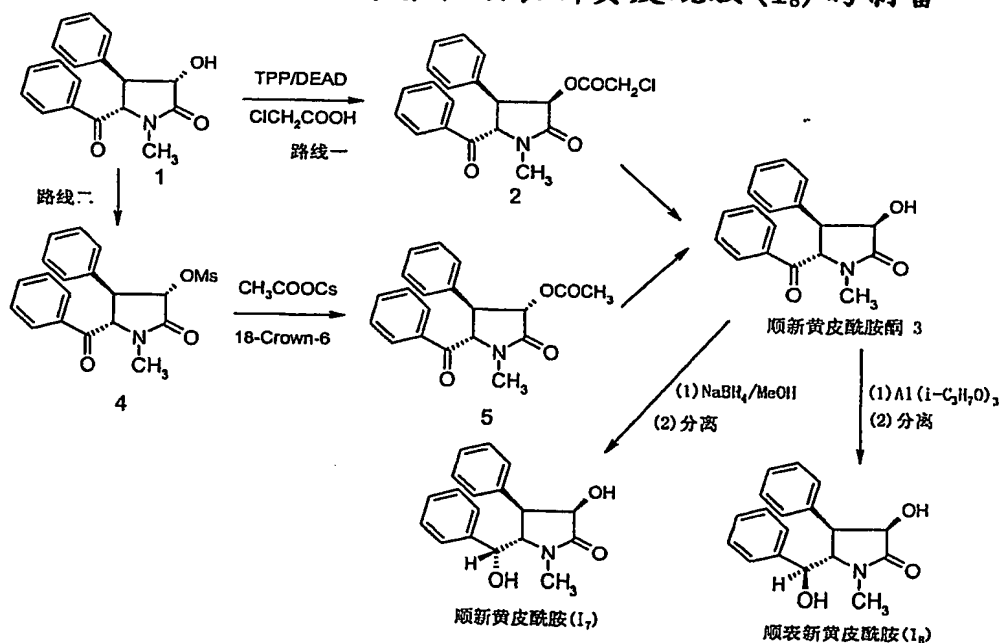
白色固体，用乙醚/石油醚重结晶得到白色丝状晶体 0.073g, mp: 128-130℃, 收率 71%。

本方法同样适用于光活体的合成，由光活的原料分别得到 (+)-(3R, 4R, 5R, 6R)-6-O-乙酰顺表黄皮酰胺, mp: 128-130℃,  $[\alpha]_D^{16} = +13.8$  (c, 0.50, CHCl<sub>3</sub>); (-)-(3S, 4S, 5S, 6S)-6-O-乙酰顺表黄皮酰胺, mp: 126-128℃,  $[\alpha]_D^{16} = -14.3$  (c, 0.43, CHCl<sub>3</sub>)。

将 0.07g 6-O-乙酰顺表黄皮酰胺溶于 10mL 甲醇中，加入 0.05g 无水碳酸钾，室温下搅拌至原料点消失，蒸去大部分溶剂后，加入 30mL 二氯甲烷稀释，分别用 0.1N 盐酸、水和饱和碳酸钠水溶液洗涤，无水硫酸钠干燥，蒸去溶剂得到白色固体，用丙酮/乙醚/石油醚重结晶得到白色丝状固体 0.04g, mp: 191-193℃, 收率 65%。

本方法同样适用于光活体的合成，由光活的原料可得到 (-)-(3R, 4R, 5R, 6R)-6-O-乙酰顺表黄皮酰胺 (I<sub>7</sub>), mp: 197-199℃,  $[\alpha]_D^{15} = -38.7$  (c, 0.385, CHCl<sub>3</sub>); (+)-(3S, 4S, 5S, 6S)-6-O-乙酰顺表黄皮酰胺 (I<sub>7</sub>), mp: 199-202℃,  $[\alpha]_D^{16} = +39.7$  (c, 0.785, CHCl<sub>3</sub>)。

#### 实施例 6 顺新黄皮酰胺 (I<sub>6</sub>) 和顺表新黄皮酰胺 (I<sub>8</sub>) 的制备



#### 路线 7 顺新黄皮酰胺 (I<sub>6</sub>) 和顺表新黄皮酰胺 (I<sub>8</sub>) 的制备

##### A: 顺新黄皮酰胺酮的制备



方法一，以偶氮二甲酸二乙酯/氯乙酸/三苯磷转位的方法制备顺新黄皮酰胺酮

将 2.10g mL 的偶氮二甲酸二乙酯 (DEAD) 渐渐滴入 1.5g(-)-(3R, 4S, 5R)-新黄皮酰胺酮，2.6g 三苯磷和 0.99g 氯乙酸的甲苯溶液中，反应液在室温下搅拌 12 小时，然后加入乙酸乙酯和石油醚的混合液，过滤，滤饼以乙酸乙酯洗涤，合并滤液和洗涤液，以水洗后蒸去溶剂，残余物以 750mg 对甲苯磺酸的 3mL 甲醇溶液在室温下搅拌 18 小时，蒸去甲醇，残余物溶于二氯甲烷，有机层依次用碳酸氢钠水溶液、饱和氯化钠水溶液洗，蒸去溶剂，残余物经柱层析分离后重结晶得到 1.05g (-)-(3S, 4S, 5R)-顺新黄皮酰胺酮，mp: 145.8-146.9 °C,  $[\alpha]_D^{25} = -138.6 (c, 0.81, \text{CHCl}_3)$ 。

以 (+)-(3S, 4R, 5S)-新黄皮酰胺酮为原料，按上述方法，得到 (+)-(3R, 4R, 5S)-顺新黄皮酰胺酮，mp: 143.8-145.7 °C,  $[\alpha]_D^{25} = +139.8 (c, 1.74, \text{CHCl}_3)$ 。

方法二，以碳酸铯/冠醚转位的方法制备顺新黄皮酰胺酮

消旋新黄皮酰胺酮 1g 溶于 10mL 无水吡啶中，冰水浴冷却下加入 0.42g 甲磺酰氯，然后在室温下搅拌至反应完全，加入 50mL 二氯甲烷稀释反应液，以稀盐酸中和，然后水洗，无水硫酸钠干燥，蒸去溶剂得到残余物 1.18g，收率 94%。

取上述磺酸酯 0.5g 溶于 30mL 无水苯中，加入 4.1g 醋酸铯和 2.4g 二苯酰-18-冠醚-6，加热回流至反应完全，冷却浓缩除去苯，柱层析得 3-O-乙酰顺新黄皮酰胺酮 0.39g，油状物，收率 87%。

以上述 3-O-乙酰顺新黄皮酰胺酮 0.27g 溶于 40mL 甲醇中，加入对甲苯磺酸 118mg，加热回流至反应完全，蒸去甲醇，残余物溶于二氯甲烷，依次以饱和碳酸氢钠，饱和食盐水溶液洗，无水硫酸钠干燥，浓缩得到固体 0.21g 收率 89%，乙酸乙酯/石油醚重结晶得到消旋顺新黄皮酰胺酮，mp: 198.3-192.4 °C。

本法以光活新黄皮酰胺酮为原料得到光活顺新黄皮酰胺酮，结果与

方法一相同。

B: 顺新黄皮酰胺酮还原制备顺表新黄皮酰胺(I<sub>8</sub>)

消旋顺新黄皮酰胺的制备:

将 0.15g (0.5mmol) (±) 顺新黄皮酰胺酮溶于 20ml 甲醇中, 搅拌下分批加入 0.41g (1.1mmol) 硼氢化钠, 室温搅拌 3 小时, TLC(乙酸乙酯/石油醚=2:1) 监测原料点消失, 并有 R<sub>f</sub> 值 0.26 和 0.33 两点生成, 用醋酸中和, 并倾入到 50ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/20ml 冰水搅拌液中, 然后分出有机层, 分别用水、饱和 NaHCO<sub>3</sub> 洗涤, 无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 蒸除溶剂得白色固体 0.134g, 柱层分离, 得前组分(±)顺新黄皮酰胺 0.04g, 收率 26.5%, 用乙醚重结晶, 得白色丝状结晶, m.p 164.5-166℃, 和后组分(±)顺表新黄皮酰胺 0.075g, 收率 49.7%, 甲醇重结晶得白色片晶, m.p 252-254℃,

光活顺新黄皮酰胺的制备:

以 250mg (+)-3R, 4R, 5S-顺新黄皮酰胺酮为原料, 同上操作, 用硼氢化钠还原, 得 (+)-(3R, 4R, 5S, 6R)-顺新黄皮酰胺 73mg, 收率 29%, m.p 164.5-166℃, [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +66.7(c, 0.525, MeOH); 同时还得到 3R, 4R, 5S, 6S-顺表新黄皮酰胺 132mg, 收率 52.45%, m.p 248-250℃, [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> +19.2(c, 0.525, MeOH)

以 250mg (-)-3S, 4S, 5R-顺新黄皮酰胺酮为原料, 同上操作, 用硼氢化钠还原, 得 (-)-(3S, 4S, 5R, 6S)-顺新黄皮酰胺 67mg, 收率 26.6%, m.p 168-170℃, [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> -65.3(c, 0.32, MeOH); 同时还得到 (-)-(3S, 4S, 5R, 6R)-顺表新黄皮酰胺 134mg, 收率 53.24% m.p 250-252℃, [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> -20.75(c, 0.265, MeOH)

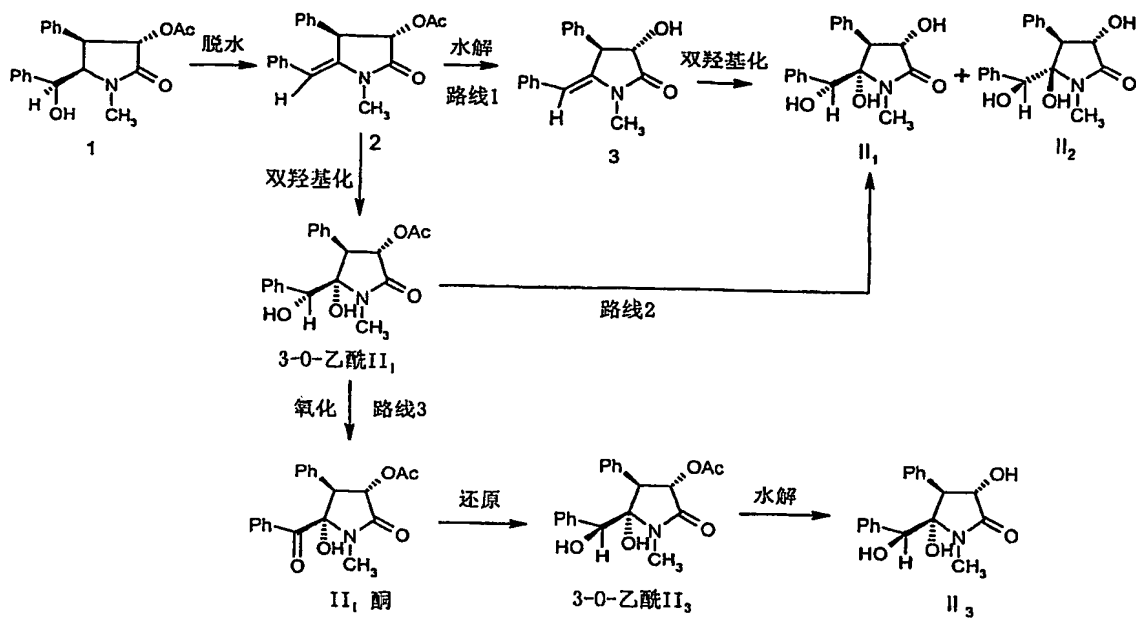
上述 (-)-(3S, 4S, 5R)-顺新黄皮酰胺酮 100mg 溶于 5mL 异丙醇铝中, 加入 160mg 异丙醇铝, 在 100℃ 的油浴中加热, 搅拌蒸出异丙醇和丙酮, 并等速补加无水异丙醇, 历时数小时后反应完毕, 蒸去大部分异丙醇, 加水以分解异丙醇铝, 以 6N 的盐酸酸化, 冰水浴冷却析出 90mg 的片晶,

薄层层析显示产物中顺表新黄皮酰胺 ( $I_8$ ) 和顺新黄皮酰胺 ( $I_6$ ) 的比率约为 3/1, 总收率 90%, 以甲醇重结晶得到 (-)-(3S, 4S, 5R, 6R)-顺表新黄皮酰胺 ( $I_8$ ), mp: 271.1-273 °C,  $[\alpha]_D^{30} = -33.3$  (c, 0.34, DMSO)

以 (+) (3R, 4R, 5S)-顺新黄皮酰胺酮为原料, 按上述方法还原可得到 (+)-(3R, 4R, 5S, 6S)-顺表新黄皮酰胺 ( $I_8$ ), mp: 275-277 °C,  $[\alpha]_D^{30} = +31.2$  (c, 0.31, DMSO)

表二 黄皮酰胺 16 个光活异构体的常数

编号	异构体名称	绝对构型	Mp °C	$[\alpha]_D^{25}$ (c, 溶剂)
$I_1$	(+) 黄皮酰胺	3R, 4S, 5S, 6R	161-162	+144 (0.26, MeOH)
	(-) 黄皮酰胺	3S, 4R, 5R, 6S	161-162	-146 (0.21, MeOH)
$I_2$	(+) 新黄皮酰胺	3R, 4S, 5R, 6S	186-187	+89.5 (0.2, MeOH)
	(-) 新黄皮酰胺	3S, 4R, 5S, 6R	186-187	-88.6 (0.18, MeOH)
$I_3$	(+) 表黄皮酰胺	3R, 4S, 5S, 6S	108-110	+201 (0.245, MeOH)
	(-) 表黄皮酰胺	3S, 4R, 5R, 6R	107-109	-204 (0.445, MeOH)
$I_4$	(+) 表新黄皮酰胺	3R, 4S, 5R, 6R	220-222	+36.5 (0.15, MeOH)
	(-) 表新黄皮酰胺	3S, 4R, 5S, 6S	221-222	-37.7 (0.16, MeOH)
$I_5$	(+) 顺黄皮酰胺	3S, 4S, 5S, 6R	197-199	+6.30 (0.46, CHCl <sub>3</sub> )
	(-) 顺黄皮酰胺	3R, 4R, 5R, 6S	196-198	-6.07 (0.675, CHCl <sub>3</sub> )
$I_6$	(+) 顺新黄皮酰胺	3R, 4R, 5S, 6R	164-166	+66.7 (0.46 MeOH),
	(-) 顺新黄皮酰胺	3S, 4S, 5R, 6S	168-170	-65.3 (0.32, MeOH)
$I_7$	(+) 顺表黄皮酰胺	3S, 4S, 5S, 6S	198-199	+39.7 (0.785, CHCl <sub>3</sub> )
	(-) 顺表黄皮酰胺	3R, 4R, 5R, 6R	199-202	-38.7 (0.385, CHCl <sub>3</sub> )
$I_8$	(+) 顺表新黄皮酰胺	3R, 4R, 5S, 6S	275-277	+31.2 (0.31, DMSO)
	(-) 顺表新黄皮酰胺	3S, 4S, 5R, 6R	271-273	-33.3 (0.34, DMSO)



### 5-羟基黄皮酰胺的制备

实施例 7 制备消旋 (3S\*, 4S\*, 5R\*, 6S\*)-5-羟基黄皮酰胺 (II<sub>2</sub>) (路线 1)。

消旋 3-O-乙酰黄皮酰胺 (1) 1.00g 在干燥条件下, 用 6mL 无水吡啶溶解, 冰水浴下搅拌 20 分钟, 滴加 1.0mL 重蒸的三氯氧磷的 4mL 无水吡啶溶液, 半小时滴完, 继续冰水浴下搅拌 24 小时, 将反应液冲入冰水中, 待固体全部析出后过滤, 滤饼用二氯甲烷重新溶解, 依次用水和氯化钠水溶液洗, 无水硫酸钠干燥, 蒸除溶剂得固体, 柱层析分离得到消旋 3-O-乙酰基- $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺 (2) 746mg, 白色固体, 收率 71%, mp 148-150℃。

取消旋 3-O-乙酰- $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺 (2) 400mg 溶于 15mL 二氯甲烷中, 加入 3mL 10% 氢氧化钠乙醇溶液, 3 分钟后用 2mol/L 盐酸将反应液调至中性, 加 20mL 二氯甲烷稀释, 1mol/L 碳酸氢钠水溶液洗涤, 氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥。蒸发溶剂得到  $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺 (3) 330mg, 白色固体, 收率 95%, mp 162-163℃。

取消旋  $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺 (3) 260mg 溶于 1mL 丙酮和 5mL 四氢呋喃中, 加入氧化 N-氧-N-甲基吗啉 545mg, 再用注射器加入 0.6mL 四氧化锇的 4% 水溶液, 室温下搅拌 24 小时之后, 向反应液中加入 650mg 无水亚硫酸钠

和 3mL 水，搅拌 1 小时，用二氯甲烷稀释反应液，分出有机相，水层二氯甲烷提取，合并有机相，氯化钠水溶液洗涤，无水硫酸钠干燥。蒸发溶剂得油状物 280mg。柱层析得到。(±)-(3S\*, 4S\*, 5R\*, 6S\*)-5-羟基黄皮酰胺(II<sub>2</sub>) 150mg，白色固体，mp:134-136℃，收率 50%。

同时得到副产物(±)-(3S\*, 4S\*, 5S\*, 6R\*)-5-羟基黄皮酰胺(II<sub>1</sub>) 70mg，白色固体，mp:127-129℃，收率 24%。

实施例 8 制备(±)-(3S\*, 4S\*, 5S\*, 6R\*)-5-羟基黄皮酰胺(II<sub>1</sub>) (路线 2)

将上述所得的消旋 3-O-乙酰基- $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺(2) 240mg 溶于 4mL 四氢呋喃/丙酮 (5/1) 中，加入 N-氧-N-甲基吗啉 581mg，再加入 1.9mL 四氧化锇的 10mg/mL 水溶液，室温下搅拌，48 小时之后向反应液中加入 500mg 无水亚硫酸钠和 10mL 水，搅拌 1 小时，转移至分液漏斗中，用二氯甲烷洗涤，有机相用氯化钠水溶液洗涤，无水硫酸钠干燥，蒸发溶剂得油状物 300mg，乙酸乙酯重结晶后制备薄层分离(乙酸乙酯)分离，共得(±)-(3S\*, 4S\*, 5S\*, 6R\*)-3-O-乙酰-5-羟基黄皮酰胺(3-O-乙酰-II<sub>1</sub>) 217mg，收率 82%，mp 163-165℃。

(±)-(3S\*, 4S\*, 5S\*, 6R\*)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺(3-O-乙酰-II<sub>1</sub>) 以 Sm/I<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 脱乙酰制备得到(±)-(3S\*, 4S\*, 5S\*, 6R\*)-5-羟基黄皮酰胺(II<sub>1</sub>)，mp:127-129℃，具体操作与实例 7 最后水解一步相同。

光活 (3S, 4S, 5R, 6S)-5-羟基黄皮酰胺(II<sub>2</sub>)、(3R, 4R, 5S, 6R)-5-羟基黄皮酰胺(II<sub>2</sub>)和光活 (3S, 4S, 5S, 6R)-5-羟基黄皮酰胺(II<sub>1</sub>)、(3R, 4R, 5R, 6S)-5-羟基黄皮酰胺(II<sub>1</sub>)的制备

同 A 中消旋体的制备方法，不同在于以光活 3-O-乙酰基黄皮酰胺(1)为原料，所得的各步产率与消旋体相近，各步化合物的熔点和旋光值如下：



} v

(-)-3-O-乙酰- $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺, mp:119-120 $^{\circ}\text{C}$ ,  $[\alpha]_{\text{D}}^{18} = -330$  (c, 0.870,  $\text{CHCl}_3$ )

(+)-3-O-乙酰- $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺, mp:119-120 $^{\circ}\text{C}$ ,  $[\alpha]_{\text{D}}^{18} = +326$  (c, 0.870,  $\text{CHCl}_3$ )

(-)- $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺, mp:125-127 $^{\circ}\text{C}$ ,  $[\alpha]_{\text{D}}^{18} = -17.1$  (c, 0.700,  $\text{CHCl}_3$ )

(+)- $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺, mp:125-127 $^{\circ}\text{C}$ ,  $[\alpha]_{\text{D}}^{18} = +16.7$  (c, 0.738,  $\text{CHCl}_3$ )

(+)-(3S, 4S, 5S, 6R)-5-羟基黄皮酰胺, 油状物,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +113$  (c, 0.505,  $\text{CH}_3\text{OH}$ )

(-)-(3R, 4R, 5R, 6S)-5-羟基黄皮酰胺, 油状物,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -117$  (c, 0.200,  $\text{CH}_3\text{OH}$ )

(+)-(3S, 4S, 5R, 6S)-5-羟基黄皮酰胺, mp: 147-149 $^{\circ}\text{C}$ ,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +202$  (c, 0.510,  $\text{CH}_3\text{OH}$ )

(-)-(3R, 4R, 5S, 6R)-5-羟基黄皮酰胺, mp: 145-147 $^{\circ}\text{C}$ ,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -208$  (c, 0.620,  $\text{CH}_3\text{OH}$ )

(-)-(3S, 4S, 5S, 6R)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺 (3-O-乙酰 II<sub>1</sub>), mp:125-128 $^{\circ}\text{C}$ ,  $[\alpha]_{\text{D}}^{15} = -323$  (c, 0.870,  $\text{CH}_3\text{OH}$ )

(+)-(3R, 4R, 5R, 6S)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺 (3-O-乙酰 II<sub>1</sub>), mp:125-127 $^{\circ}\text{C}$ ,  $[\alpha]_{\text{D}}^{15} = +327$  (c, 0.470,  $\text{CH}_3\text{OH}$ )

### 实施例 8

A: 消旋( $\pm$ )-(3S\*, 4S\*, 5S\*, 6S\*)-5-羟基黄皮酰胺(II<sub>3</sub>)的制备(路线 3)

向干燥三口瓶中加入 5mL 干燥四氢呋喃, 冷却至-50~-60 $^{\circ}\text{C}$ , 在  $\text{N}_2$  保护下加入草酰氯(重蒸)453 $\mu\text{l}$ , 搅拌 1 分钟后, 缓慢加入 DMSO (分子筛干燥) 767 $\mu\text{l}$ , 保持温度在-50~-60 $^{\circ}\text{C}$  之间, 加完后搅拌 5 分钟, 再缓慢加入 150mg ( $\pm$ )-(3S\*, 4S\*, 5S\*, 6R\*)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺 (3-O-乙酰-II<sub>1</sub>) 的 10mL 四氢呋喃溶液, 加完后在上述温度下搅拌 2 小时, 之后滴加 1mL 三乙胺, 在此温度下保持半小时后缓慢的升至室温, 加入 10mL 水, 减压蒸去四氢呋喃, 残余物用乙酸乙酯萃取至水层无产物, 有

机层用 1 mol/L 盐酸, 碳酸氢钠水溶液, 饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸镁干燥。蒸发溶剂得 250mg 油状物, 柱层析纯化得(±)-(3S\*, 4S\*, 5S\*)-3-O-乙酰-5-羟基黄皮酰胺酮(3-O-乙酰-II<sub>1</sub>酮), 95mg, 收率:71%。

取(±)-(3S\*, 4S\*, 5S\*)-3-O-乙酰-5-羟基黄皮酰胺酮(3-O-乙酰-II<sub>1</sub>酮) 82mg 用 3mL 甲醇溶解, 冰水浴下搅拌 20 分钟后加入硼氢化钠 30mg, 继续在冰水浴下搅拌 10 分钟, 用 1 mol/L 盐酸将反应液小心调至中性, 加入少量水后减压蒸去有机溶剂, 残余物用乙醚溶解, 分出醚层, 水层用乙醚洗, 合并醚层用氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 蒸发溶剂得油状物, 柱层析分离得到(3S\*, 4S\*, 5S\*, 6S\*)-3-O-乙酰-5-羟基黄皮酰胺(3-O-乙酰-II<sub>3</sub>) 60mg, mp:144-147℃, 收率 73%。

(3S\*, 4S\*, 5S\*, 6S\*)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺 50mg 溶于 5mL 无水甲醇中, 加入单质碘 38mg 和单质钐 23mg, 在空气下反应 12 小时, 用乙酸乙酯稀释反应液并转移至分液漏斗中, 硫代硫酸钠水溶液(25%)洗涤, 分出有机层后用氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸去溶剂, 柱层析纯化得(±)-(3S\*, 4S\*, 5S\*, 6S\*)-5-羟基-黄皮酰胺(II<sub>3</sub>) 25mg, 乙酸乙酯/石油醚重结晶得到白色固体 mp:114-116℃, 收率 56%。

B: (3S, 4S, 5S, 6S)-5-羟基-黄皮酰胺(II<sub>3</sub>)和(3R, 4R, 5R, 6R)-5-羟基-黄皮酰胺(II<sub>3</sub>)的制备。

同 A 中消旋体的制备方法, 以(-)-(3S, 4S, 5S, 6R)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺(3-O-乙酰 II<sub>1</sub>)或(+)-(3R, 4R, 5R, 6S)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺(3-O-乙酰 II<sub>1</sub>)为原料, 所得的各步产率与消旋体相同, 各步化合物的熔点和旋光值如下:

(-)-(3S, 4S, 5S)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺酮(3-O-乙酰 II<sub>1</sub>酮), mp:125-128℃,  $[\alpha]_D^{15} = -310$  (c, 0.360, CHCl<sub>3</sub>)

(+)-(3R, 4R, 5R)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺酮(3-O-乙酰 II<sub>1</sub>酮), mp:127-129℃,  $[\alpha]_D^{18} = +312$  (c, 0.442, CHCl<sub>3</sub>)

(-)-(3S, 4S, 5S, 6S)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺(3-O-乙酰 II<sub>3</sub>), mp:153-157℃,  $[\alpha]_D^{15} = -31.9$  (c, 0.455, CH<sub>3</sub>OH)

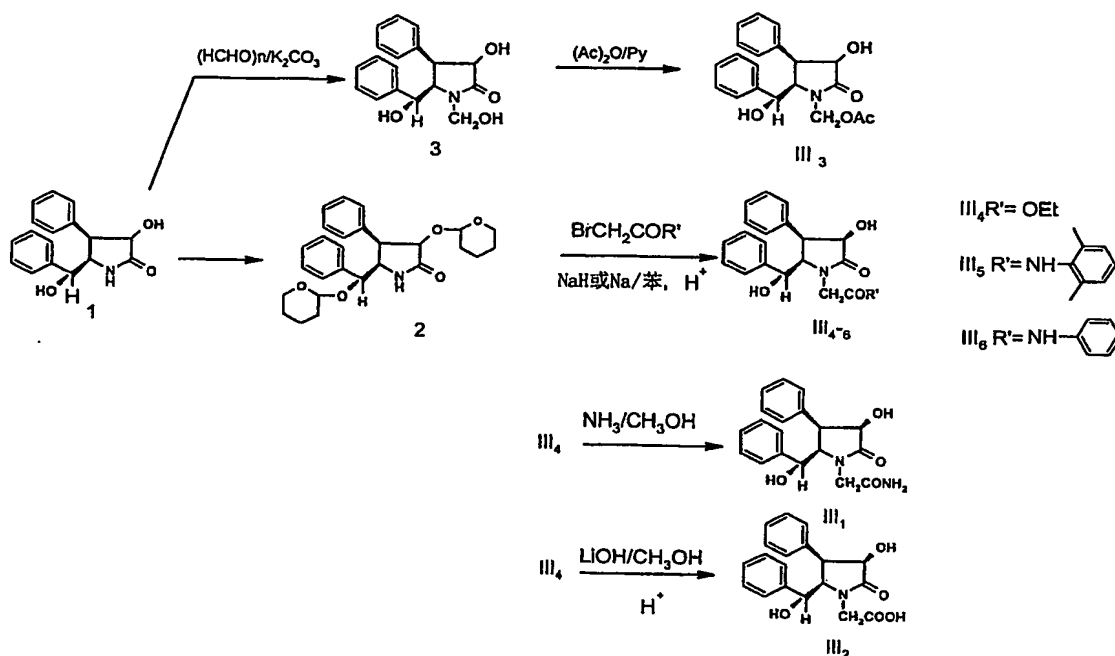


34

(+)-(3R, 4R, 5R, 6R)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺 (3-O-乙酰 II<sub>3</sub>),  
mp: 152-156 °C,  $[\alpha]_D^{18} = +31.7$  (c, 0.480, CH<sub>3</sub>OH)

(-)-(3S, 4S, 5S, 6S)-5-羟基黄皮酰胺 (II<sub>3</sub>), 油状物,  $[\alpha]_D^{18} = -53.6$   
(c, 0.470, CH<sub>3</sub>OH)

(+)-(3R, 4R, 5R, 6R)-5-羟基黄皮酰胺 (II<sub>3</sub>), 油状物,  $[\alpha]_D^{18} = +54.1$   
(c, 0.480, CH<sub>3</sub>OH)



### 路线 10

实施例 9 N-(乙氧羰基亚甲基)去甲黄皮酰胺 (III<sub>4</sub>) 的制备 (如路线 10)

(1) 光活 3, 6-二-O-四氢吡喃基新黄皮酰胺酮的制备

(-)-(3R, 4S, 5R)-新黄皮酰胺酮 443mg (1.5mmol), 280mg 3, 4-二氢吡喃 (4.5mmol) 38mg 吡啶对甲苯磺酸盐 (0.15mmol), 搅拌过夜, 反应完成后, 用 10ml 二氯甲烷稀释, 用 NaCl 水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得 (+)-3, 6-二-O-四氢吡喃基新黄皮酰胺酮 0.51g, 收率 89.6%, m. p. 181-7 °C,  $[\alpha]_D^{15} +13.46$  (c, 0.42, CHCl<sub>3</sub>).

(+)-(3S, 4R, 5S)-新黄皮酰胺酮 0.35g 参照上法得 (-)-3, 6-二-O-四氢吡喃基新黄皮酰胺酮 416mg, 收率 91.4%, m. p. 194-200 °C,  $[\alpha]_D^{15} -11.9$  (c, 0.24, CHCl<sub>3</sub>).



将 3,6-二-O-四氢吡喃去甲黄皮酰胺(2) 120mg 溶于 5mL 无水苯中，加入氢钠 21mg，油浴加热半小时，再在室温下搅 10 分钟，加入 66mg 溴乙酸乙酯的 5mL 无水苯溶液，油浴 60℃ 下反应 20 分钟后，将反应液温度降至室温，加入 3mL 水搅拌，用二氯甲烷稀释，2N 盐酸调至中性，分出有机层，用氯化钠水溶液洗涤，无水硫酸钠干燥，蒸发溶剂得到油状物，将此油状物用乙醇溶解，加入 10mg 对甲苯磺酸，油浴 60℃ 下反应脱四氢吡喃保护，反应完全后直接柱层析纯化，得到标题化合物，79 mg，油状物，收率 82%。

#### 实施例 10 N-(氨羰基亚甲基)去甲黄皮酰胺(III 1)的制备

将 N-(乙氧羰基亚甲基)去甲黄皮酰胺(III4) 60mg，以大大过量的 NH<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH 溶液处理，放置过夜，柱层析纯化后得到标题化合物 40mg，为白色固体，mp:146-148℃，收率 72%。

#### 实施例 11 N-(乙酰氧基亚甲基)-去甲黄皮酰胺(III 3)的制备

将去甲黄皮酰胺(1) 200mg 溶于 7.5mL 丙酮中，滴加 3 滴水，然后加入 33mg 的多聚甲醛和碳酸钾 9mg，外温升至 60℃，25 分钟后停止加热，将反应混合物用冰水快速冷却，减压蒸发溶剂得 208mg 粘液。柱层析得 162mg N-羟甲基去甲黄皮酰胺(3) 的白色固体，mp: 199-201℃，收率 73%。

将 N-羟甲基去甲黄皮酰胺(3) 155mg 溶于 10mL 无水四氢呋喃中，冰盐浴下(-8℃)搅拌 20 分钟，滴加 75mg 醋酐和 59mg 的吡啶 2mL 无水 THF 溶液，在此温度下搅拌 3 小时，加入少量水，二氯甲烷稀释，分出有机层，用水和氯化钠水溶液各洗一次，无水硫酸钠干燥，蒸除溶剂后柱层析分离得到 N-(乙酰氧基亚甲基)-去甲黄皮酰胺(III 3)，60mg，mp: 137-139℃，收率 32%。

### 药理实验

#### 试验例 1 本发明化合物对人胚胎脑神经干细胞克隆形成率的影响

### 目的和意义：

神经干细胞数量的增加或寿命的延长对增加神经元和防止神经元丢失具有特别重要的意义。建立人胚胎脑神经干细胞的特殊培养结合细胞克隆形成的方法以检测黄皮酰胺 16 个对映体是否具有促进神经干细胞增殖的作用。

### 方法：

人胚胎脑神经干细胞在含有表皮生长因子(EGF) 20ng/ml、碱性成纤维细胞生长因子(FGF-2) 20ng/ml、N-2 添加剂的 DMEM/F12 培养基(购于 BIBC0 公司)和在 5% CO<sub>2</sub> 和 37° C 培养箱中连续培养。用 0.1 %胰蛋白酶溶液将人胚胎脑神经干细胞的神经球消化成单细胞悬液，离心 1000 rpm X 5 min，再用培养基冲洗，细胞经接种于 96 孔培养板中，神经干细胞 1 X 10<sup>3</sup> 细胞/孔，每组 4 孔，连续培养。24h 后加药，16 种光学活性的黄皮酰胺 (No. 1-No. 16 名称见表 1) 的给药剂量为 1  $\mu$ M，每周换一次含药的低营养培养基(FGF-2 2 ng/ml、EGF 2 ng/ml 和 N-2 添加剂的 DMEM/F12 培养基)，每周两次在显微镜下观测细胞生长状态，在第 3 周，4 周，6 周分别在显微镜下计数细胞克隆数，用 t 检验与对照组进行统计学处理。

结果见表 1 和图 1

表 1. 本发明化合物对人胚胎脑神经干细胞克隆形成的影响

化合物	N	剂量 uM	第 6 周 克隆形成数	细胞克隆 形成率%
对照组	4	1	22.25 ± 4.86	100
(+) 顺新黄皮酰胺	4	1	24.00 ± 4.69	107.87
(+) 顺表新黄皮酰胺	4	1	27.50 ± 5.26	123.60
(+) 顺黄皮酰胺	4	1	23.75 ± 6.70	106.74
(-) 顺黄皮酰胺	4	1	24.50 ± 3.11	110.11
(+) 顺表黄皮酰胺	4	1	23.00 ± 0.82	103.37
(-) 顺表黄皮酰胺	4	1	29.25 ± 6.85	131.46
(+) 表新黄皮酰胺	4	1	26.00 ± 2.94	116.85
(-) 表新黄皮酰胺	4	1	32.50 ± 7.05 *	146.07
(+) 黄皮酰胺	4	1	27.00 ± 5.48	121.35
(-) 黄皮酰胺	4	1	26.50 ± 4.12	119.1
(-) 顺新黄皮酰胺	4	1	33.5 ± 4.20 #	150.56
(-) 顺表新黄皮酰胺	4	1	25.00 ± 3.56	112.36
(+) 新黄皮酰胺	4	1	30.00 ± 4.40 *	134.83
(-) 新黄皮酰胺	4	1	24.5 ± 4.43	110.11
(-) 表黄皮酰胺	4	1	25.00 ± 3.16	112.36
(+) 表黄皮酰胺	4	1	28.75 ± 3.59	129.21

$P < 0.05$ ; #  $P < 0.01$  .

结论: 本发明的 16 种光学活性黄皮酰胺中有三种黄皮酰胺 (No. 8((-) 表新黄皮酰胺); No. 11((-) 顺新黄皮酰胺) 和 No. 13((+) 新黄皮酰胺)) 具有明显促进人胚胎脑神经干细胞克隆形成的作用, 这对老年性神经退行性疾病如老年性痴呆等具有特别重要的意义。

## 实验例 2、化合物对神经细胞胞浆游离钙的影响



11

## 目的和意义

钙作为第二信使在细胞活动中起着重要作用，胞浆游离钙浓度的变化是联系许多生理/病理刺激和细胞内效应器反应之间的枢纽，化合物对胞浆游离钙浓度的影响在药物筛选中有着重要意义。

## 方法

取新生大鼠，分离大脑皮层神经细胞，制备单细胞悬液  $10^6$  细胞/ml，在 37 度条件下，细胞经荧光探针 (Fura-2/AM, 购于 SIGMA 公司)  $5\ \mu\text{M}$  剂量进行负载 40min，在日本 SHIMADZU RF-5000 荧光光密度测定仪中测定细胞内钙离子的荧光强度，在静息时和加入药物 37°C 温育 5 分钟，以及 50 mM KCl 刺激后的胞浆游离钙浓度，分别计算加入表 2 中所列的 16 个化合物 5 分钟和加入 KCl 后的胞浆游离钙升高幅度，每种化合物重复做 5-8 次 ( $N=5-8$ )，结果合并计算出每个化合物的细胞内游离钙浓度。

结果见表 2.

表 2. 本发明化合物对神经细胞胞浆游离钙的影响

化合物 代号	16 种黄皮酰胺 中文名	(% basal level) X±SD (n=5-8)
对照组	DMSO	17.82±3.84
对照组	KCl	67.58±6.48
No1	(+) 顺新黄皮酰胺	14.09±5.81
	KCl	55.22±8.04
No2	(+) 顺表新黄皮酰胺	15.86±5.55
	KCl	50.71±10.70
No 3	(+) 顺黄皮酰胺	20.13±4.94
	KCl	65.13±15.48
No 4	(-) 顺黄皮酰胺	17.85±4.97
	KCl	55.69±7.43
No 5	(+) 顺表黄皮酰胺	18.82±3.53
	KCl	65.52±7.28
No 6	(-) 顺表黄皮酰胺	22.80±4.30
	KCl	65.67±6.99
No 7	(+) 表新黄皮酰胺	16.79±6.13
	KCl	70.60±7.94
No 8	(-) 表新黄皮酰胺	16.79±6.13
	KCl	70.60±7.94
No 9	(+) 黄皮酰胺	22.05±3.84
	KCl	60.99±10.32
No 10	(-) 黄皮酰胺	20.99±4.91
	KCl	66.35±9.38
No 11	(-) 顺新黄皮酰胺	23.64±4.96
	KCl	76.40±12.76
No 12	(-) 顺表新黄皮酰胺	25.90±5.54
	KCl	64.16±7.97
No 13	(+) 新黄皮酰胺	26.39±3.39
	KCl	69.99±9.05
No 14	(-) 新黄皮酰胺	19.49±4.51
	KCl	59.82±8.32
No 15	(-) 表黄皮酰胺	25.80±4.93
	KCl	65.53±9.08
No 16	(+) 表黄皮酰胺	17.79±3.40
	KCl	58.72±7.50

(47)

结论：本发明的化合物中有 6 种黄皮酰胺 (No. 6((-) 顺表黄皮酰胺); No. 9(+) 黄皮酰胺); No. 11((-) 顺新黄皮酰胺); No. 12((-) 顺表新黄皮酰胺); No. 13(+) 新黄皮酰胺); No. 15((-) 表黄皮酰胺)) 有升高神经细胞胞浆游离钙水平的趋势。钙作为第二信使在细胞活动中起着重要作用，胞浆游离钙浓度的变化与许多生理/病理刺激和细胞内效应器的反应具有密切关系。

### 实验例 3 本发明化合物对大鼠海马长时程增强 (LTP) 的影响

#### 目的和意义

黄皮酰胺在多种行为学实验中表现出明显的促智作用，但其对突触传递活动的影响目前还不清楚，而突触是神经系统中细胞间信息传递和加工的基础环节，其功能活动和形态结构上的改变是学习记忆活动的神经生物学基础，因此，本实验采用电生理学技术从突触水平对黄皮酰胺的促智作用进行研究。

#### 方法

成年雄性 SD 大鼠 (5 只/组) 以 20% (w/v) 乌拉坦 ( $1.0\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , ip) 麻醉并固定于立体定位仪上。参照 Pellegrino 大鼠脑立体定位图谱，在海马齿状回颗粒细胞层埋藏记录电极 (外覆绝缘层，尖端裸露 0.2mm，直径 0.2mm 的不锈钢针)。侧脑室给予表 9 所示的 4 对光学活性的黄皮酰胺。刺激电极 (两枚间距 0.5mm，外覆聚四氟乙烯绝缘层，尖端裸露 0.2mm，直径 0.15mm 的不锈钢针构成) 埋植于大鼠内嗅区穿通路 (perforant path, PP) 纤维间。电子刺激器产生持续的电流刺激后，经刺激隔离器和刺激电极输向 PP。调整刺激电极的位置，直到观察到典型的兴奋性突触后电位 (EPSP)。电流通过放大器放大后，经过计算机 DataWave 软件处理。刺激强度则采用引起最大群峰电位 (Population spike, PS) 所需刺激强度的 1/2。在整个实验过程中，每 30 秒钟给予一次测试刺激频率，记录群峰电位幅度 (Population spike amplitude, PSA)，根据公式 (PSA/基础幅度值) 计算出相对的 PSA 百分率。

结果见表 3

表 3. 本发明化合物对大鼠海马长时程增强 (LTP) 的结果 4/

代号	黄皮酰胺名称	LTP 15 分钟 X± SD	LTP 30 分钟 X± SD	LTP60分钟 X± SD
No1	(+) 顺新黄皮酰胺	135.0± 12.9	150.9± 19.9	192.3± 22.4 *
No2	(+) 顺表新黄皮酰胺	97.0± 18.9	110.1± 25.7	121.7± 37.1
No3	(+) 顺黄皮酰胺	87.3± 4.4	102.9± 5.9	122.5± 14.5
No4	(-) 顺黄皮酰胺	126.2± 2.3	141.2± 8.6	205.4± 24.7 *
No5	(+) 顺表黄皮酰胺	101.7± 5.2	109.7± 11.7	109.6
No6	(-) 顺表黄皮酰胺	107.2	100.3	105.4
No7	(+) 表新黄皮酰胺	104.7± 8.0	94.7± 10.3	101.1± 28.5
No8	(-) 表新黄皮酰胺	90.6± 11.9	91.9± 15.2	118.2± 15.4
No9	(+) 黄皮酰胺	90.6± 0.3	110.1± 13.1	106.4± 4.1
No10	(-) 黄皮酰胺	131.8± 0.4	138.5± 8.9	158.1± 4.2 *
No11	(-) 顺新黄皮酰胺	94.1± 6.7	98.2± 6.6	94.9
No12	(-) 顺表新黄皮酰胺	88.5± 10.2	88.1± 9.4	84.6
No13	(+) 新黄皮酰胺	99.3± 29.6	70.9	97
No14	(-) 新黄皮酰胺	81.8± 14.0	65.5± 4.3	
No15	(-) 表黄皮酰胺	97.8± 21.7	91.2± 22.5	117.3± 22.5
No16	(+) 表黄皮酰胺	136.0± 22.8	147.5± 15.0	207.8± 12.8 *

结论：由实验结果（表 3）可知，本发明的 16 种光学活性黄皮酰胺中有 4 种黄皮酰胺 (No. 1((+) 顺新黄皮酰胺；No. 4((-) 顺黄皮酰胺)；No. 10((-) 黄皮酰胺)；No. 16((+) 表黄皮酰胺)) 对大鼠海马长时程增强 (LTP) 具有明显的增强作用，(P<0.05vs control, n=5)。本发明化合物对神经细胞基础突触传递有增强作用，说明本发明的化合物有促智作用。

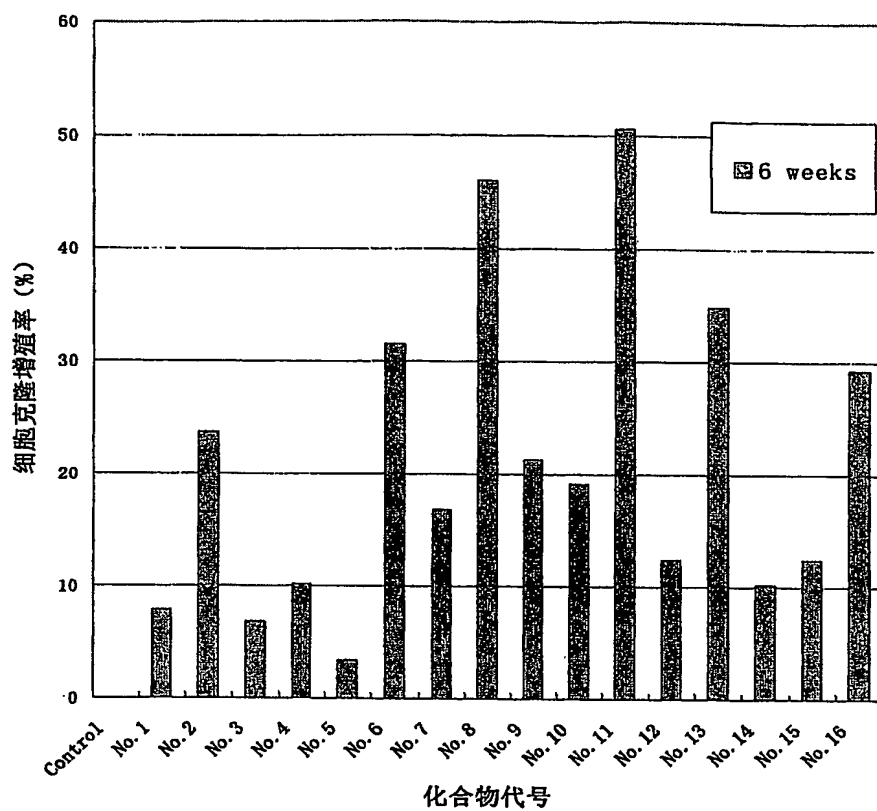


图 1



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☒ **BLACK BORDERS**

☒ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☒ **FADED TEXT OR DRAWING**

☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☒ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☒ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**